PROTOCOLES EXAO

LOGICIEL ATELIER SCIENTIFIQUE POUR LES SVT CONSOLE ESAO PRIMO

Atelier Scientifique pour les SVT
Généraliste pour les SVT
Ce mode généraliste permet :
de paramétrer librement l'acquisition avec une interface Ex.A.O.
de réaliser des acquisitions et traitements vidéo
d'utiliser un tableur scientifique.
de disposer de l'ensemble des outils de traitement de l'atelier scientifique SVT
de réaliser un compte-rendu.
Primo
ok
JEULIN

SOMMAIRE

PAGE 3 : LA PHOTOSYNTHESE
(module généraliste)

PAGE 14 : MISE EN EVIDENCE DU METABOLISME CELLULAIRE DES LEVURES
(module généraliste)

PAGE 26 : LA REACTION DE HILL
(module généraliste)

PAGE 41 : ETUDE DE CINETIQUE ENZYMATIQUE PAR OXYMETRIE – LA GLUCOSE OXYDASE
(module généraliste)

PAGE 60 : ETUDE DU REFLEXE MYOTATIQUE
(module généraliste)

PAGE 66 : ETUDE DU METABOLISME HUMAIN
(module dédié)

PAGE 71 : LA SONDE O2 – MODE D'EMPLOI

PAGE 77 : LA SONDE CO2 – MODE D'EMPLOI

LA PHOTOSYNTHESE

Niveau : lycée- supérieur
Classe : Terminale S
F*iche professeur*

1 Objectifs et principes

Mise en évidence des échanges gazeux chez la plante en présence et en absence de lumière.
Montrer que les végétaux chlorophylliens utilisent l'énergie lumineuse ainsi que le CO_2 pour transformer la matière minérale en matière organique.
$CO_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Lumière}} (CH_2O) + O_2$
avec **CH_2O = glucides**
L'intensité photosynthétique est mise en évidence par la mesure de la concentration en O_2 et en CO_2 du milieu, ici la cuve du bioréacteur, qui donnera, par calcul, la consommation/production de ces gaz, au cours des phases sombres et phases claires de l'expérimentation.

On alternera phase sombre (respiration) et phase claire (photosynthèse) en ouvrant ou fermant les volets du bioréacteur.

Cette expérimentation se fait dans l'eau

Mode opératoire
Durée de préparation : 20 min
Durée de réalisation en classe : 30 min

2 Mode opératoire

2.1 Protocole expérimental

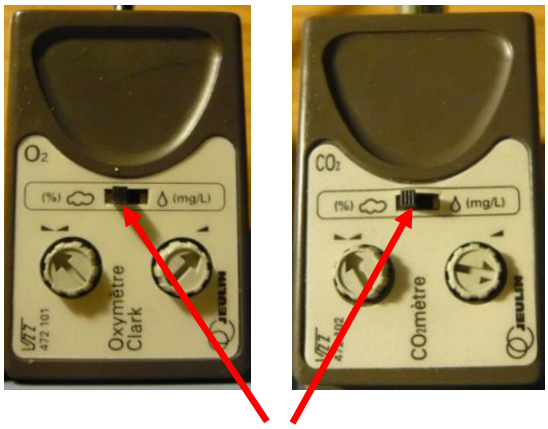
a) Préparation du matériel biologique

On utilisera de préférence de la Cabomba vigoureuse que l'on aura pris soin de placer quelques jours avant dans un aquarium sous un éclairage important. On peut également utiliser du Cératophylle ou encore des Elodées (attention : la variété sauvage prélevée en milieu naturel en hiver sera en état de vie ralentie et ne permettra pas une mise en évidence nette de la photosynthèse…).
Un morceau de plante (environ deux « feuilles ») sera nécessaire pour chaque poste expérimental.

*

b) Montage expérimental

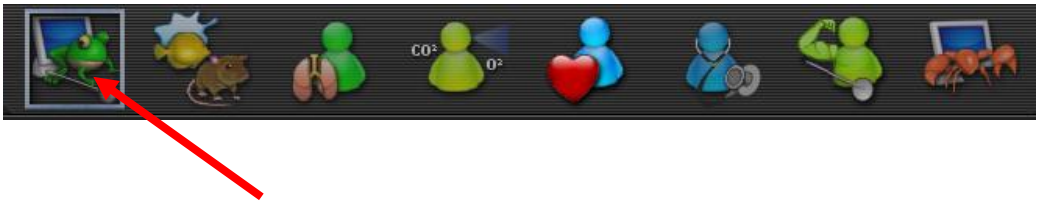
- Brancher la sonde O_2 sur le capteur oxymètre
- Connecter le capteur oxymètre sur l'une des 4 entrées de l'interface PRIMO
- Vérifier que l'interrupteur sur le capteur oxymètre est sur la position air
- Brancher la sonde CO_2 sur le capteur CO_2mètre
- Connecter le capteur CO_2mètre sur l'une des entrées de l'interface PRIMO
- Vérifier que l'interrupteur sur le capteur CO_2mètre est sur la position air



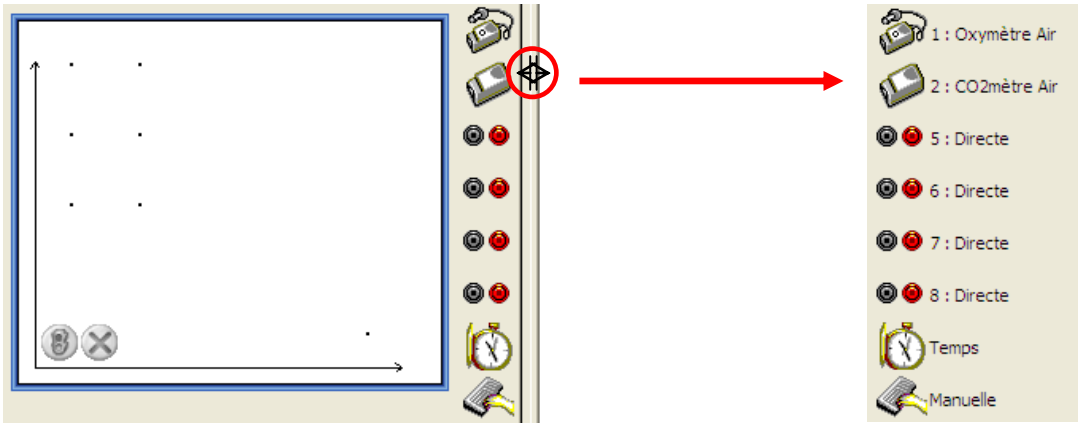
- Lancer l'Atelier Scientifique pour les SVT.

Atelier Scientifique pour les SVT
Généraliste pour les SVT
Ce mode généraliste permet :
de paramétrer librement l'acquisition avec une interface Ex.A.O.
de réaliser des acquisitions et traitements vidéo
d'utiliser un tableur scientifique.
de disposer de l'ensemble des outils de traitement de l'atelier scientifique SVT
de réaliser un compte-rendu.
Primo
ok
JEULIN

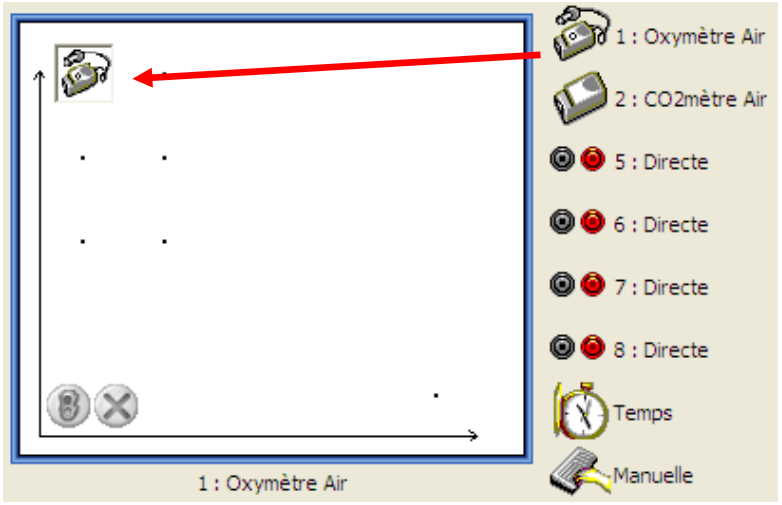
- Vérifier que l'interface sélectionnée (en bas à gauche) est bien la console PRIMO (ou choix automatique)
- Double-cliquer sur l'icône correspondante au module « Généraliste pour les SVT »



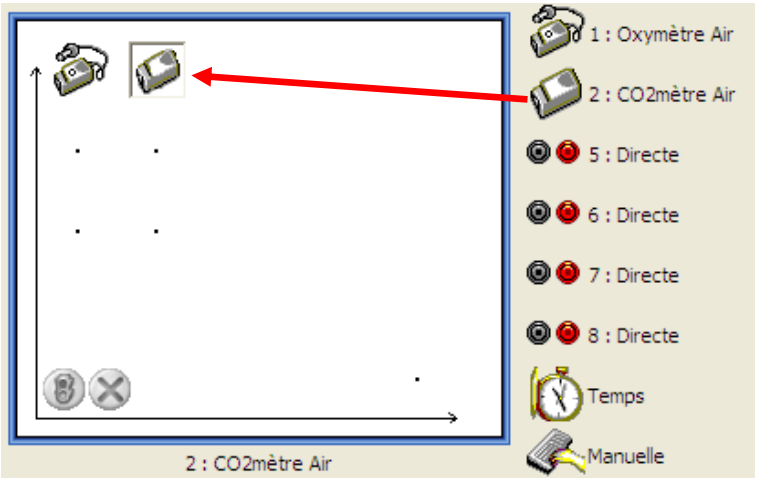
- Dans la fenêtre qui s'ouvre, vous pouvez faire apparaître le nom des capteurs connectés à votre interface en positionnant la souris à droite des capteurs jusqu'à l'apparition d'une double flèche ⇹ .
Faire un clic gauche et déplacer la souris vers la droite en maintenant ce clic.



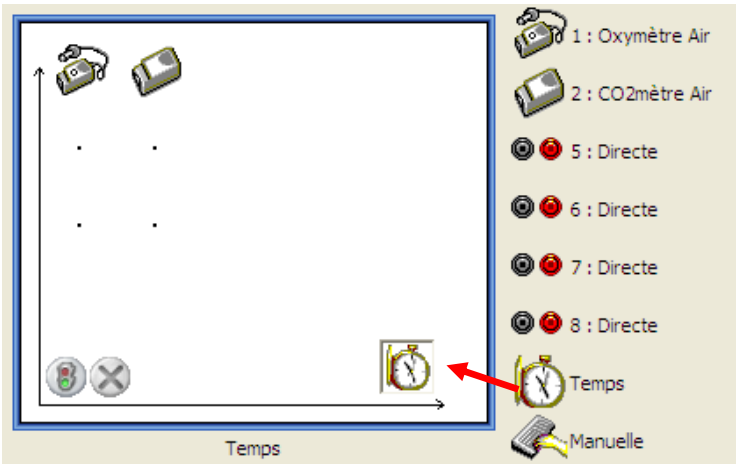
- Placer le capteur oxymètre air sur l'axe des ordonnées en cliquant sur l'icône « Oxymètre Air » puis en déplaçant la souris en maintenant ce clic.
Les 6 points d'accroche sur l'axe des ordonnées étant équivalents, vous pouvez donc placer le capteur oxymètre sur celui de votre choix.



- De même positionner le capteur CO_2mètre sur l'axe des ordonnées

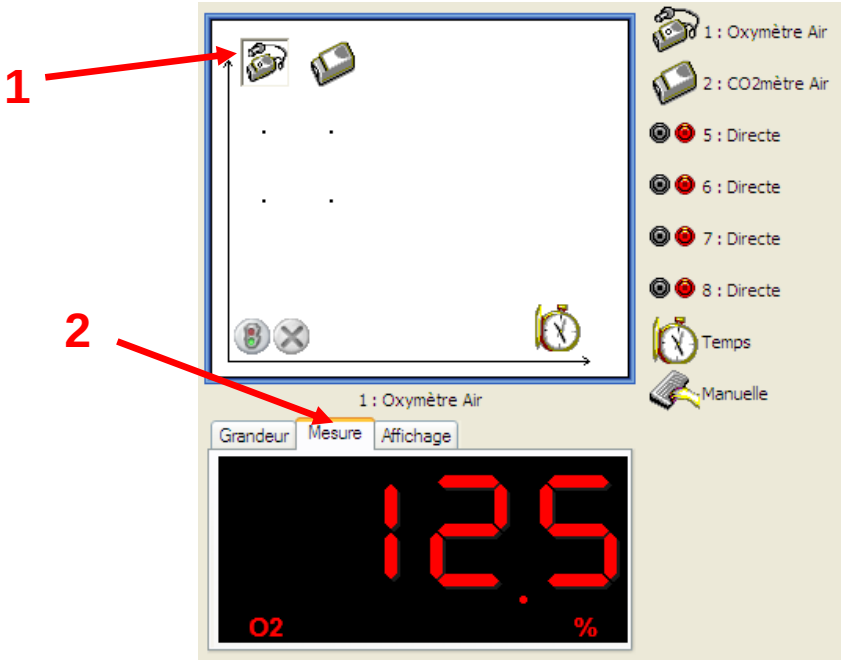


- Positionner l'icône « Temps » sur l'axe des abscisses

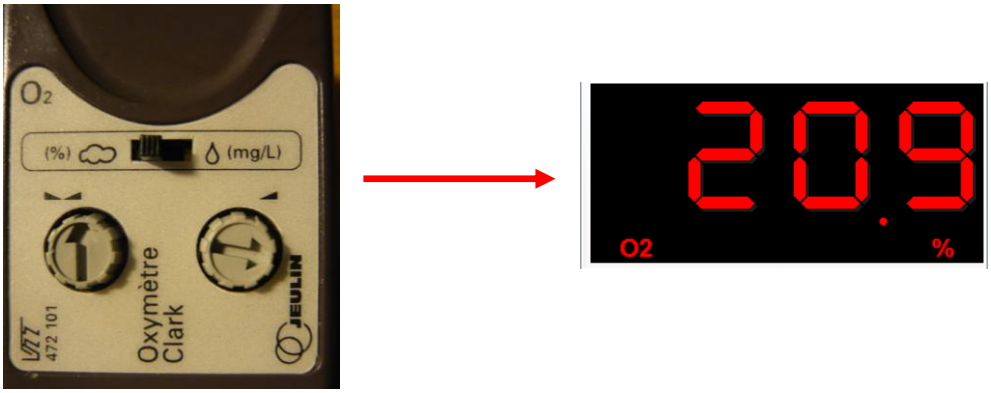


- Etalonnage de la sonde O_2 :

- Cliquer sur l'icône oxymètre sur l'axe des ordonnées
- Cliquer ensuite sur l'onglet mesure

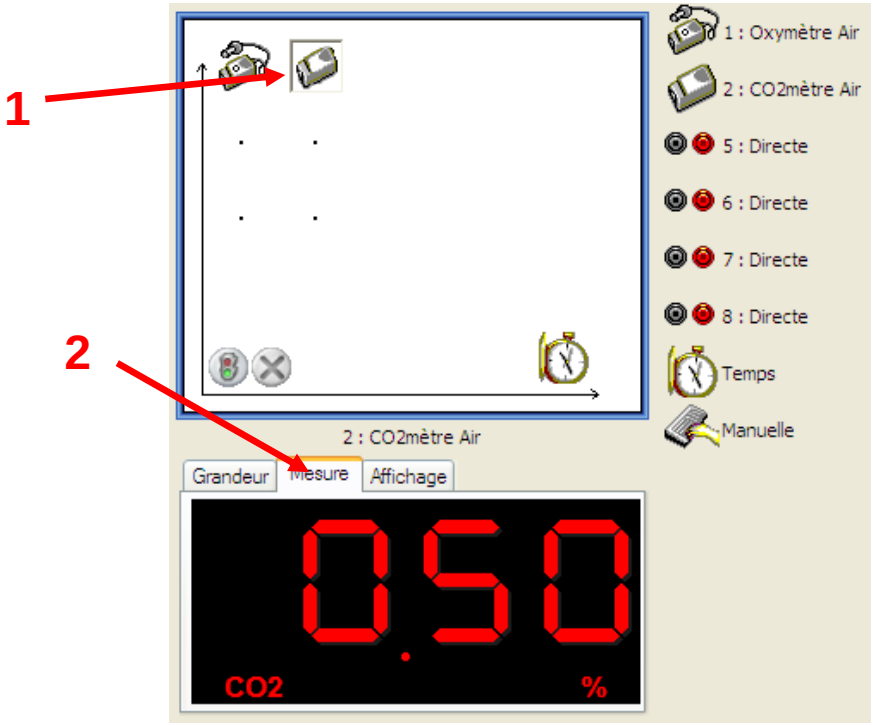


- Mettre la sonde dans l'air
- Positionner le bouton zéro (repéré par le symbole ◣◢) du capteur oxymètre en milieu de course
- Régler le bouton pente (repéré par le symbole ◣) de façon à obtenir 20,9 % sur l'onglet mesure.

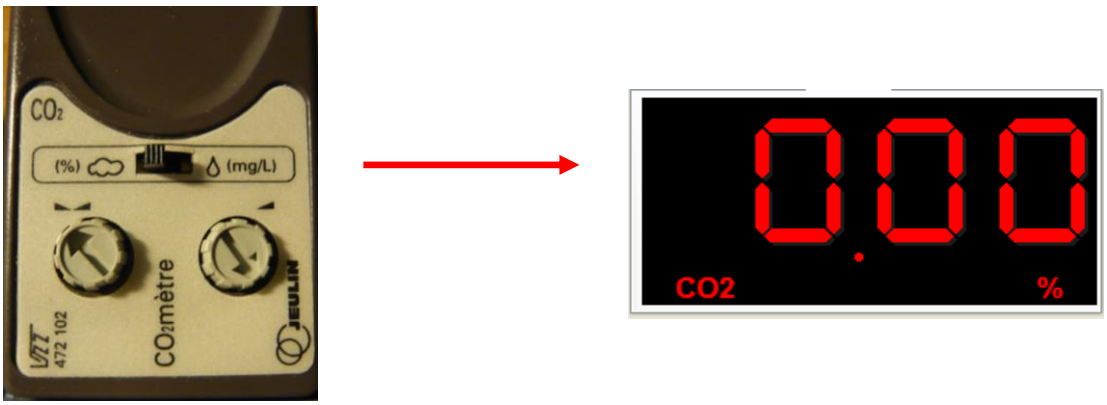


- Etalonnage de la sonde CO_2 :

- Cliquer sur l'icône CO_2mètre sur l'axe des ordonnées
- Cliquer ensuite sur l'onglet mesure



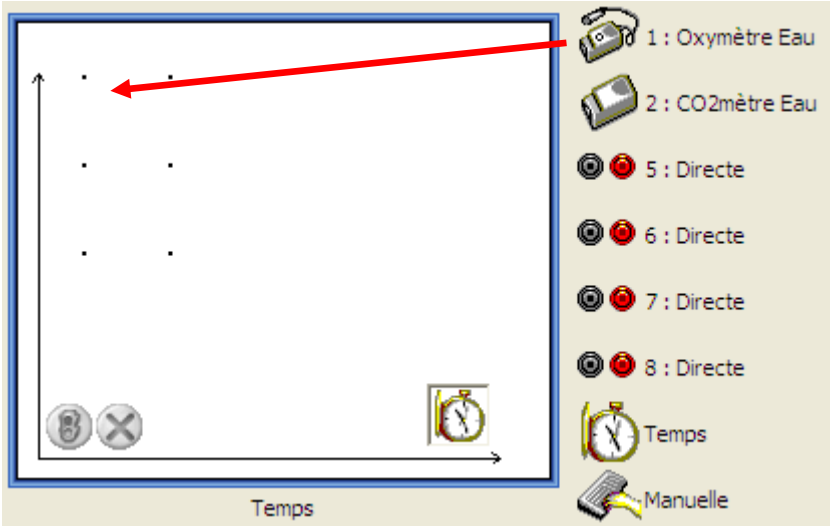
- Mettre la sonde CO_2 dans l'air
- Positionner le bouton pente (repéré par le symbole ◣) du capteur CO_2mètre au maximum
- Régler le bouton zéro (repéré par le symbole ◣◢) de façon à obtenir 0,00 % sur l'onglet mesure.



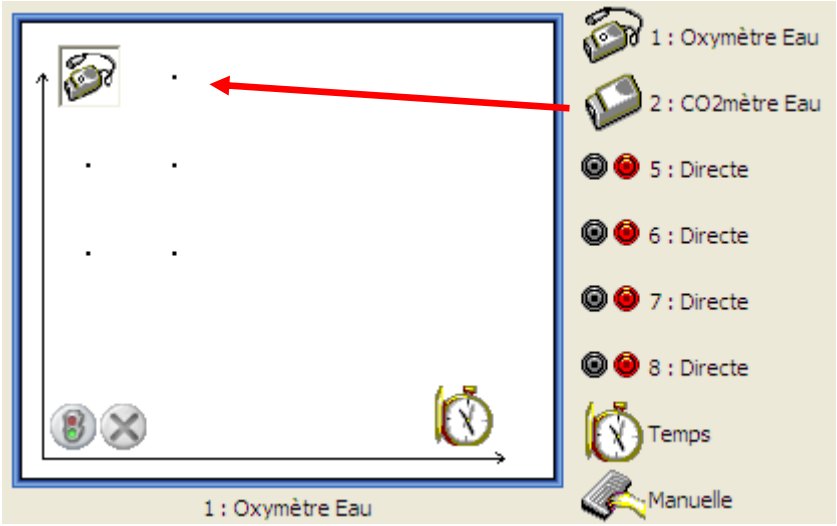
- Paramétrage de la mesure :

- Basculer l'interrupteur du capteur oxymètre sur la position « eau »
Remarque : sur le logiciel, l'icône « Oxymètre air » va disparaître de l'axe des ordonnées (cette fonctionnalité est prévue pour éviter les changements de calibre non voulus ; la sélection du calibre de la sonde étant déterminante pour la mesure de l'O_2 dissout dans l'eau).

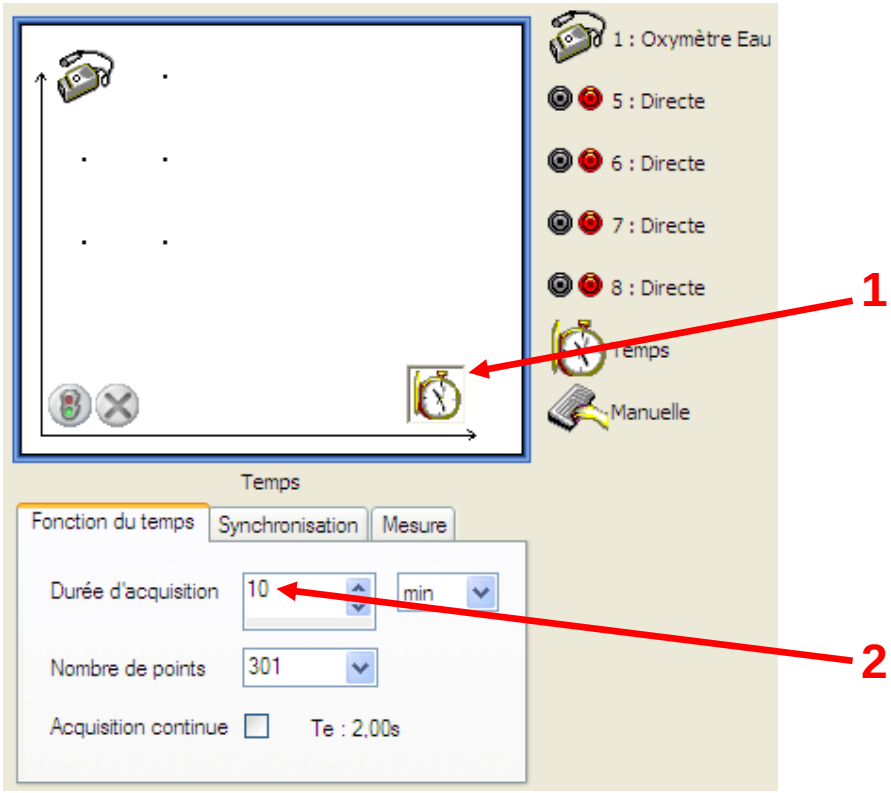
- Replacer l'icône « Oxymètre Eau » sur l'axe des ordonnées.



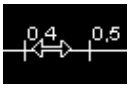
- Basculer l'interrupteur du capteur CO_2mètre sur la position « eau »
- Replacer l'icône « CO_2mètre Eau » sur l'axe des ordonnées.



- Paramétrer la durée d'acquisition sur 10 min en cliquant sur l'icône « Temps » sur l'axe des abscisses



NB : on peut prolonger éventuellement l'acquisition en cours de manipulation en se plaçant sur l'axe des abscisses, le curseur « change » d'aspect (double flèche), il suffit alors de déplacer la souris vers la gauche.



2.2 Réalisation de l'expérience

a) Remplir la cuve du bioréacteur au 2/3 avec de l'eau* à température ambiante

** attention à ne pas utiliser d'eau distillée, les plantes ont besoin de minéraux. Prendre de l'eau de l'aquarium dans lequel les plantes sont maintenues, ou de l'eau du robinet qu'on aura laissé à température ambiante.*

b) Couper des fragments de Cabomba en petits morceaux de 2-3 mm et les déposer dans la cuve du bioréacteur.

c) Placer les sondes par les emplacements situés dans le couvercle du bioréacteur en évitant l'emplacement central sous lequel se trouve l'agitateur.

NB : La sonde O2 et CO2 ne doivent pas toucher le fond de la cuve du bioréacteur !

d) Fermer les trous « non utilisés » grâce aux bouchons prévus à cet effet.

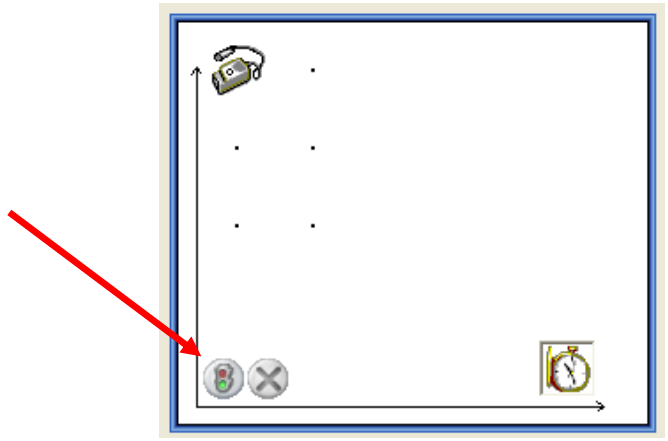
e) Fermer les volets du bioréacteur.

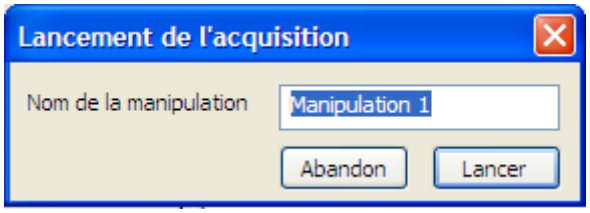
f) Brancher le bioréacteur et lancer l'agitation

NB : On peut ajouter un thermomètre et un luxmètre afin de vérifier que la température est bien restée constante. La mesure de la lumière permet de repérer les périodes d'éclairement ou d'obscurité.

Acquisition :

▪*Lancer la mesure en cliquant sur le feu vert*





▪*Après 3 à 4 minutes à l'obscurité, Allumer la lampe, la placer à une dizaine de cm du bioréacteur, et la diriger vers la fenêtre du bioréacteur puis ouvrir les volets.*

▪*Mettre un repère sur l'axe des temps, en appuyant sur la barre d'espace afin de marquer le changement de condition de lumière*

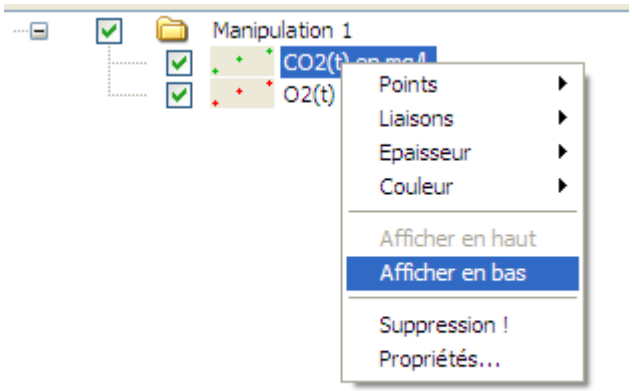
▪*Laisser se dérouler l'expérience environ 5 min à la lumière puis refermer les volets.*

▪*Laisser se dérouler l'expérience environ 5 min à l'obscurité puis ouvrir à nouveau les volets.*

Multiplier les alternances lumière obscurité

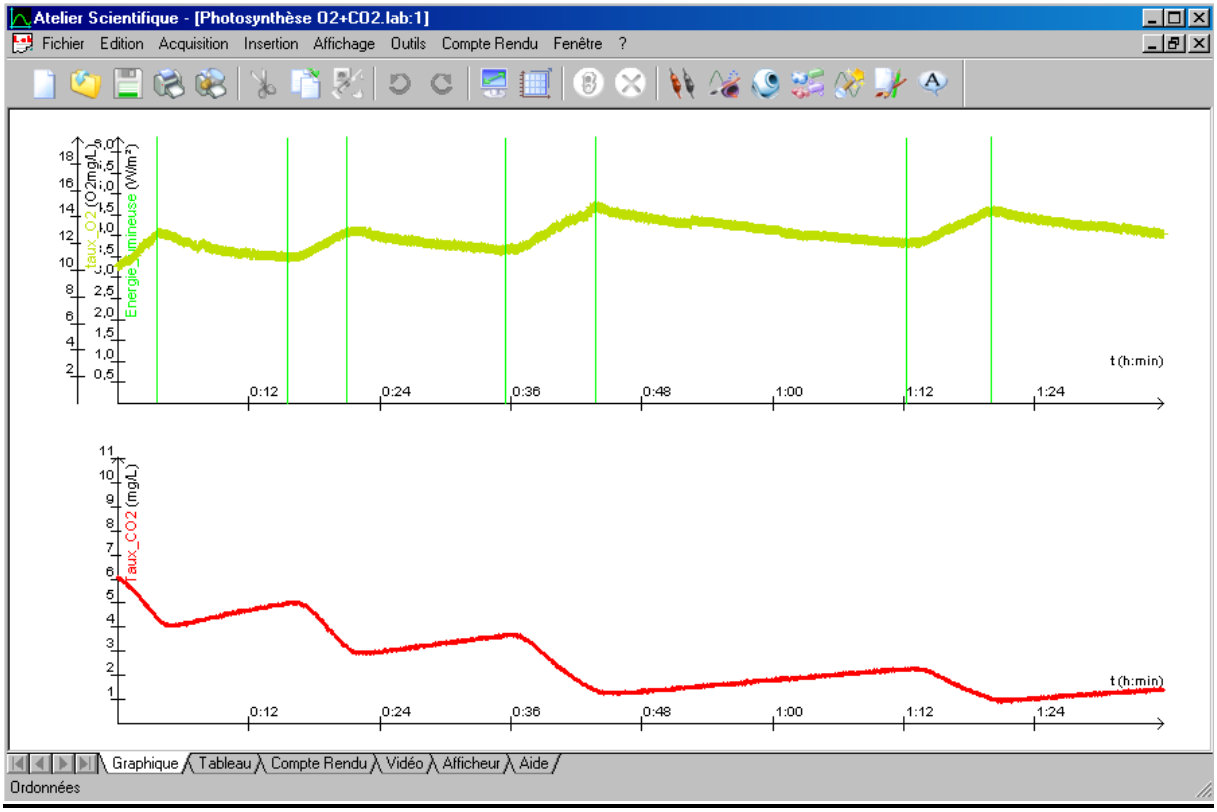
Pour afficher les courbes sur deux graphiques différents, afin de pouvoir modifier les échelles, il suffit de cliquer sur l'icône affichage

- sélectionner la courbe CO_2 et puis faire un clic droit
- cliquer ensuite sur « Afficher en bas »



▪ *Stopper la mesure en cliquant sur la croix rouge*

2.3 Exemple de résultats attendus



MISE EN EVIDENCE DU METABOLISME CELLULAIRE DES LEVURES + CO_2

1 Objectif

Montrer que les levures respirent et montrer que les levures produisent de l'éthanol en milieu anaérobie.
On place une solution de levure dans un faible volume hermétique, avec des sondes à dioxygène, à dioxyde de carbone et à éthanol.

Rappel :

- La levure est un micro-organisme : champignon unicellulaire de forme variable, capable d'utiliser diverses molécules organiques, en particuliers des glucides pour en tirer de l'énergie par respiration ou fermentation, grâce à un équipement enzymatique spécifique.

- La RESPIRATION est la dégradation complète du glucose

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + 2860\,kJ$$

- La FERMENTATION alcoolique est la dégradation -incomplète- du glucose avec production d'éthanol et de dioxyde de carbone, en absence de dioxygène :

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

2 Protocole

✓ Préparation des levures :

Diluer environ 10 g de levures fraîches dans 1 litre d'eau. Placer le récipient sur un agitateur magnétique, avec un bulleur, au minimum 48H (les levures doivent être affamées mais bien vivantes…). Il est important d'utiliser un agitateur magnétique pour garder un milieu homogène en levure et éviter ainsi un prélèvement en surface qui contiendrait finalement peu de levure.

NB : avec des levures lyophilisées, ½ sachet par litre.
Attention : si la concentration de levure est trop importante, cela risque d'obturer la membrane de la sonde à O2…

✓ Préparation du glucose :

Préparer une solution de glucose à 50g/L

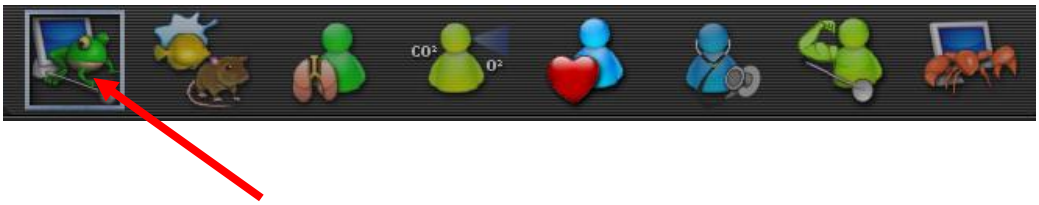
3 Mise en place de l'expérimentation

- Brancher la sonde O_2 sur le capteur oxymètre
- Connecter le capteur oxymètre sur l'une des 4 entrées de l'interface PRIMO
- Vérifier que l'interrupteur sur le capteur oxymètre est sur la position air
- Brancher la sonde CO_2 sur le capteur CO_2mètre
- Connecter le capteur CO_2mètre sur l'une des entrées de l'interface PRIMO
- Vérifier que l'interrupteur sur le capteur CO_2mètre est sur la position air
- Brancher la sonde éthanol sur le capteur Ethanol
- Connecter le capteur Ethanol l'une des entrées de l'interface PRIMO
- Vérifier que l'interrupteur sur le capteur Ethanol est sur la position air

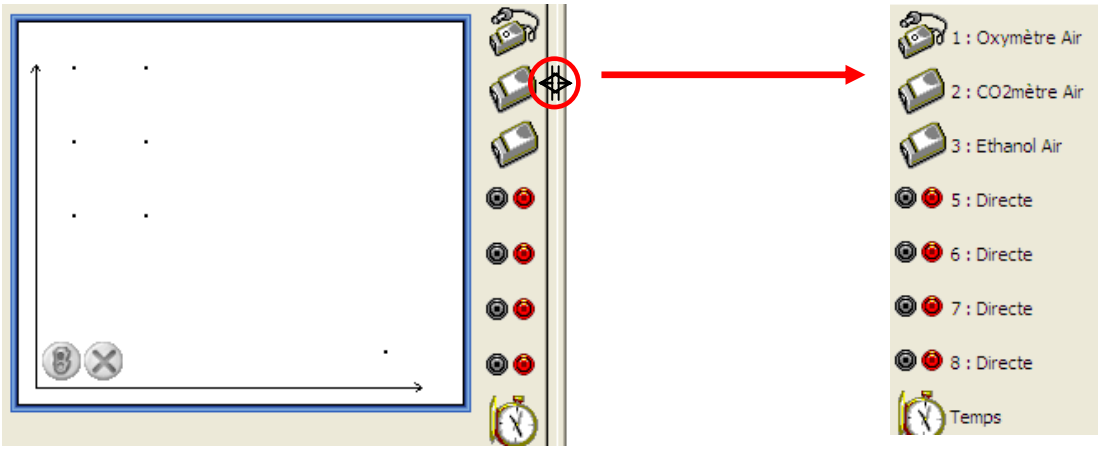
- Lancer l'Atelier Scientifique pour les SVT.

Atelier Scientifique pour les SVT
Généraliste pour les SVT
Ce mode généraliste permet :
de paramétrer librement l'acquisition avec une interface Ex.A.O.
de réaliser des acquisitions et traitements vidéo
d'utiliser un tableur scientifique.
de disposer de l'ensemble des outils de traitement de l'atelier scientifique SVT
de réaliser un compte-rendu.
Primo
ok
JEULIN

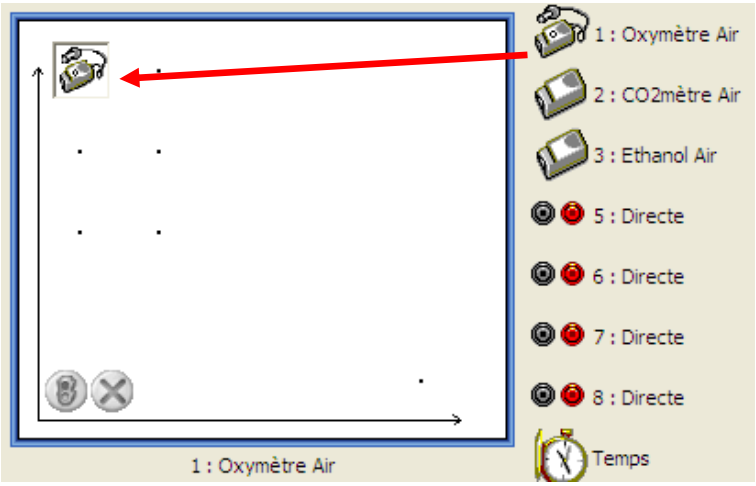
- Vérifier que l'interface sélectionnée (en bas à gauche) est bien la console PRIMO (ou choix automatique)
- Double-cliquer sur l'icône correspondante au module « Généraliste pour les SVT »



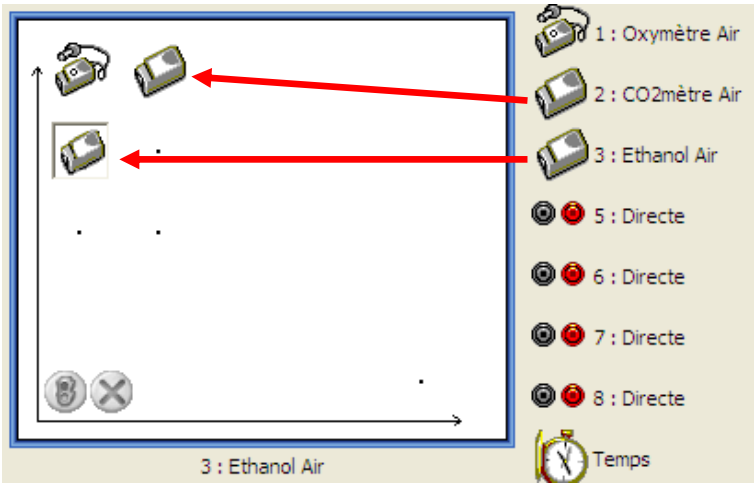
- Dans la fenêtre qui s'ouvre, vous pouvez faire apparaître le nom des capteurs connectés à votre interface en positionnant la souris à droite des capteurs jusqu'à l'apparition d'une double flèche ⇹ .
Faire un clic gauche et déplacer la souris vers la droite en maintenant ce clic.



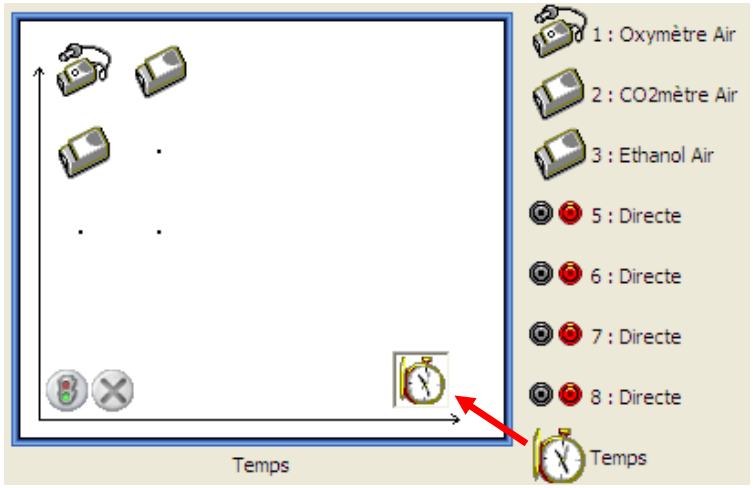
- Placer le capteur oxymètre air sur l'axe des ordonnées en cliquant sur l'icône « Oxymètre Air » puis en déplaçant la souris en maintenant ce clic.
Les 6 points d'accroche sur l'axe des ordonnées étant équivalents, vous pouvez donc placer le capteur oxymètre sur celui de votre choix.



- De même positionner les capteurs CO_2mètre et Ethanol sur l'axe des ordonnées

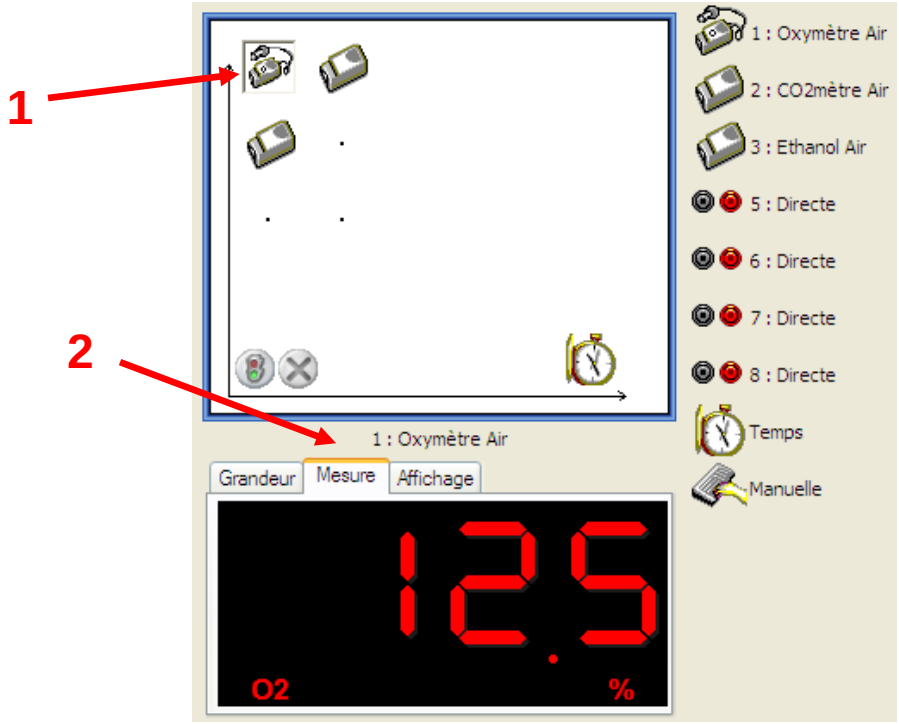


- Positionner l'icône « Temps » sur l'axe des abscisses

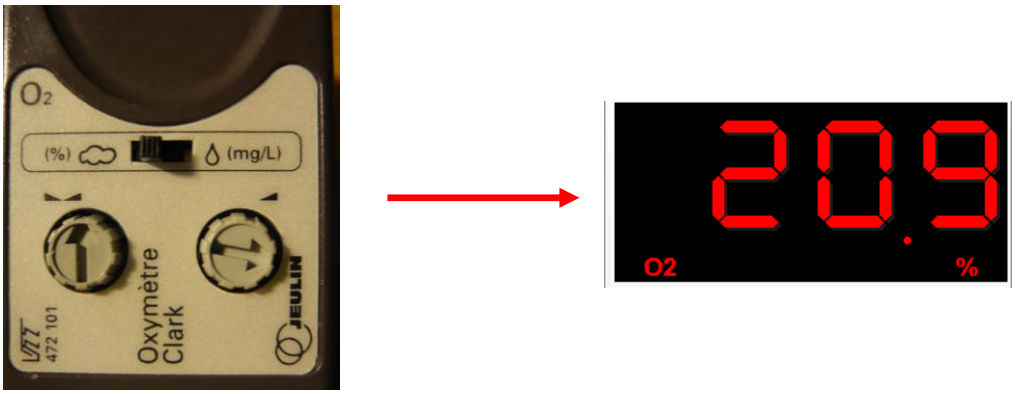


- Etalonnage de la sonde O_2 :

- Cliquer sur l'icône oxymètre sur l'axe des ordonnées
- Cliquer ensuite sur l'onglet mesure

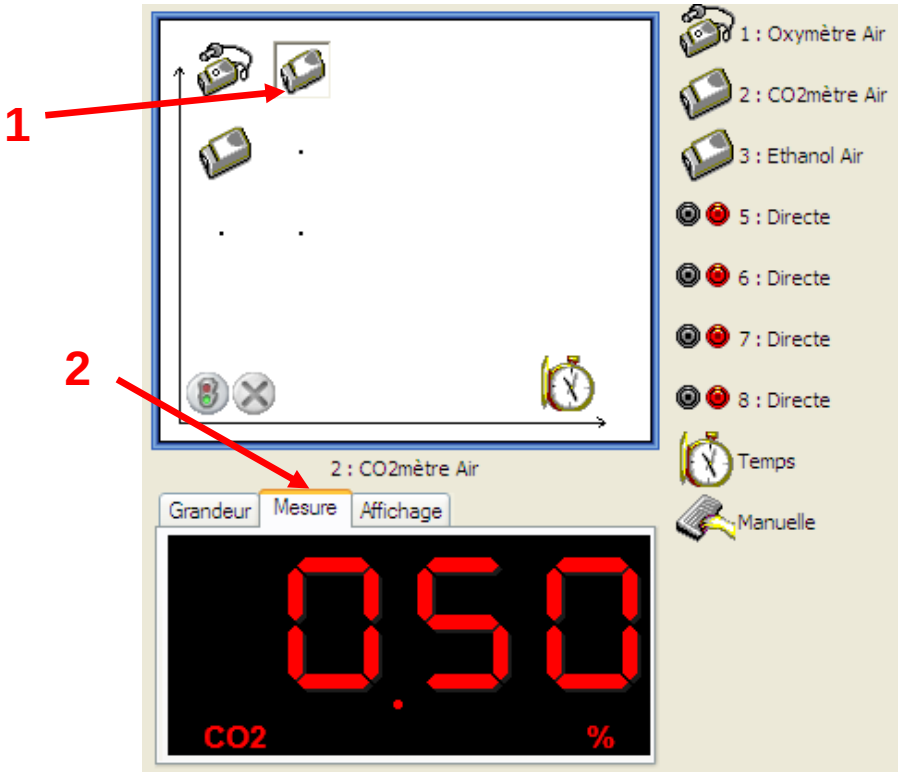


- Mettre la sonde dans l'air
- Positionner le bouton zéro (repéré par le symbole ◣◢) du capteur oxymètre en milieu de course
- Régler le bouton pente (repéré par le symbole ◣) de façon à obtenir 20,9 % sur l'onglet mesure.

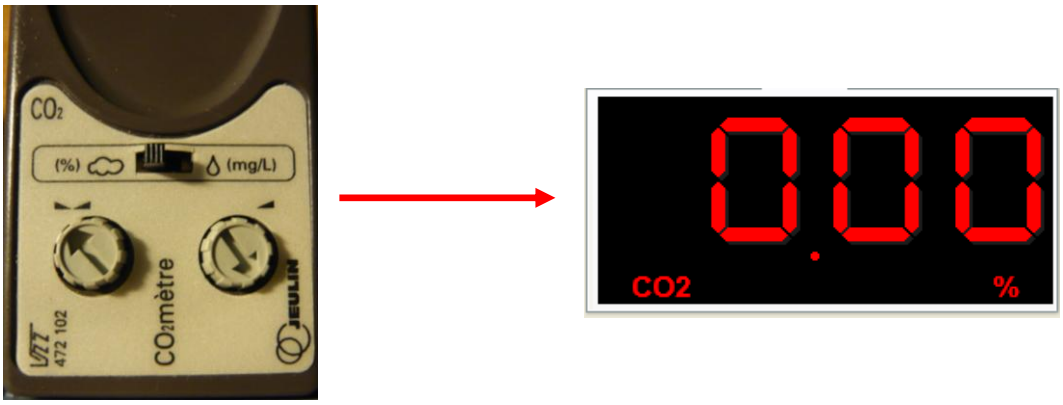


- Etalonnage de la sonde CO_2 :

- Cliquer sur l'icône CO_2mètre sur l'axe des ordonnées
- Cliquer ensuite sur l'onglet mesure

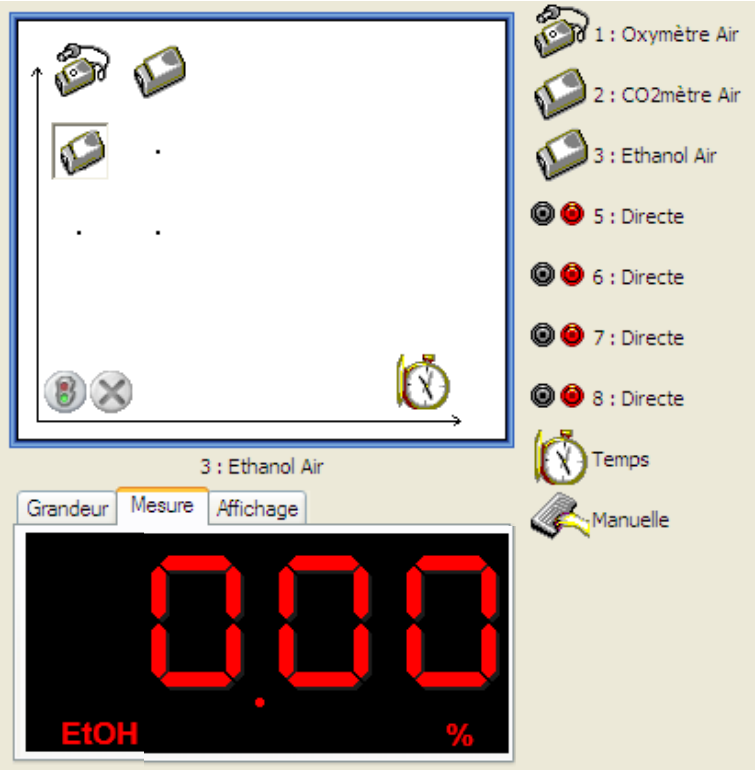


- Mettre la sonde CO_2 dans l'air
- Positionner le bouton pente (repéré par le symbole ◣) du capteur CO_2mètre au maximum
- Régler le bouton zéro (repéré par le symbole ◣◢) de façon à obtenir 0,00 % sur l'onglet mesure.



- <u>Etalonnage de la sonde éthanol</u> :

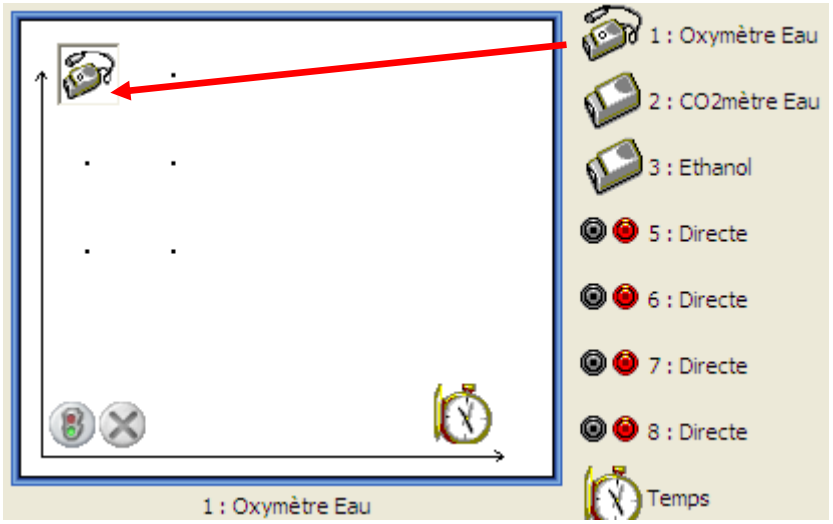
  - Cliquer sur l'icône Ethanol sur l'axe des ordonnées
  - Cliquer ensuite sur l'onglet mesure



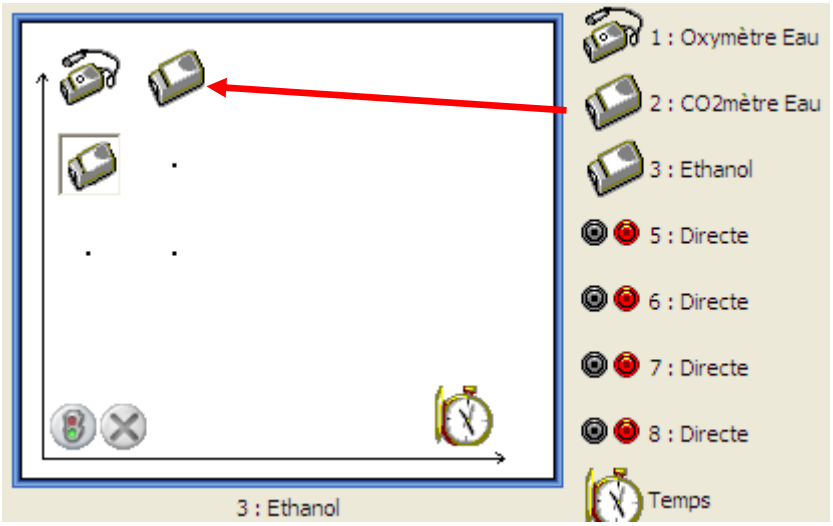
  - Positionner le bouton pente (repéré par le symbole ◣) du capteur Ethanol de façon à obtenir 0% sur l'onglet mesure en laissant la sonde dans l'air.

4 Paramétrage de la mesure

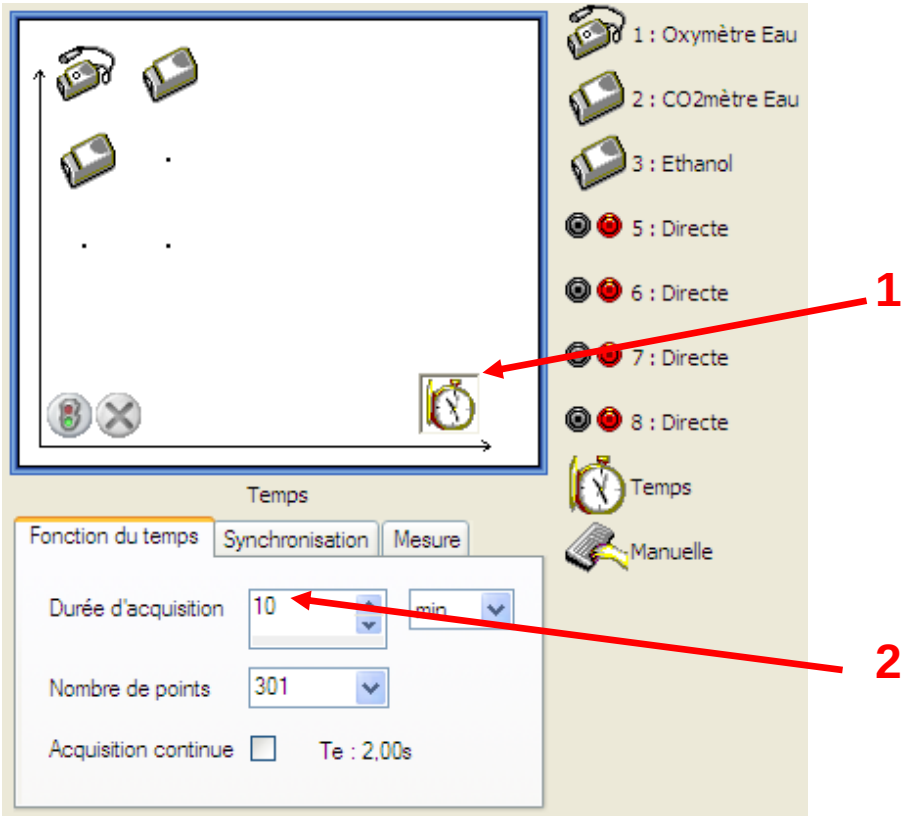
- Basculer l'interrupteur du capteur oxymètre sur la position « eau »
Remarque : sur le logiciel, l'icône « Oxymètre air » va disparaître de l'axe des ordonnées (cette fonctionnalité est prévue pour éviter les changements de calibre non voulus ; la sélection du calibre de la sonde étant déterminante pour la mesure de l'O_2 dissout dans l'eau).
- Replacer l'icône « Oxymètre Eau » sur l'axe des ordonnées.



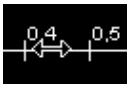
- De même basculer les interrupteurs des capteurs CO_2mètre et Ethanol sur la position « eau » et repositionner sur l'axe des ordonnées.



- Paramétrer la durée d'acquisition sur 10 min en cliquant sur l'icône « Temps » sur l'axe des abscisses



NB : on peut prolonger éventuellement l'acquisition en cours de manipulation en se plaçant sur l'axe des abscisses, le curseur « change » d'aspect (double flèche), il suffit alors de déplacer la souris vers la gauche.



5 Réalisation de l'expérience

a) Remplir la cuve du bioréacteur au 3/4 avec la solution de levure de façon à ce que cela déborde une fois le couvercle positionné (pour éviter une interface d'air).
b) Positionner les 3 sondes sur le couvercle du bioréacteur. Positionner de préférence la sonde éthanol au centre car elle est moins sensible à l'agitation.

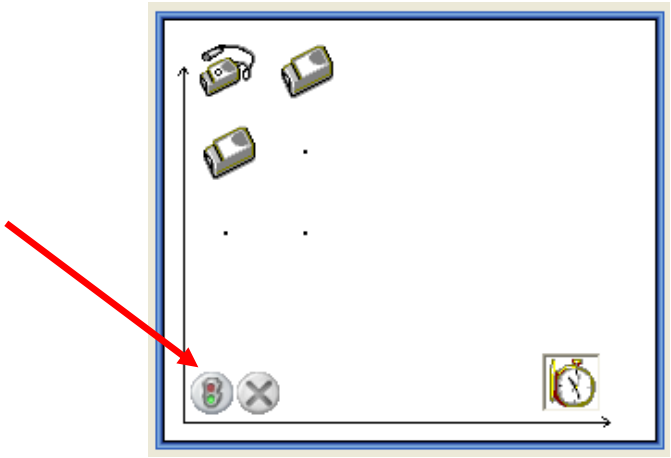
NB : Les sondes ne doivent pas toucher le fond de la cuve du bioréacteur !

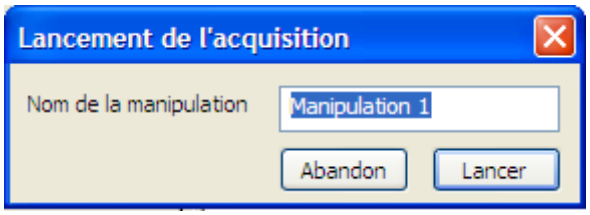
c) Fermer les trous « non utilisés » grâce aux bouchons prévus à cet effet.

d) Brancher le bioréacteur et lancer l'agitation

<u>Acquisition :</u>

▪*Lancer la mesure en cliquant sur le feu vert*



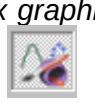


▪*Après 4 à 5 minutes, on peut procéder à une injection de glucose via l'orifice prévu à cet effet sur le bioréacteur.*

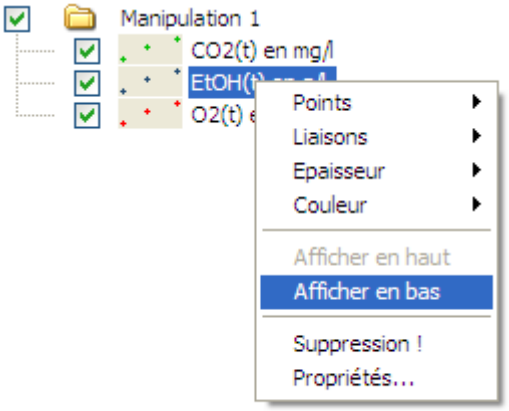
N.B. : La quantité de glucose à injecter dépend de la qualité et de la quantité de levure présente dans l'enceinte. Après une première injection de 1ml, si le changement de pente n'est pas significatif, il ne faut pas hésiter à ajouter davantage de glucose.

▪*Mettre un repère sur l'axe des temps, en appuyant sur la barre d'espace afin de marquer l'injection.*

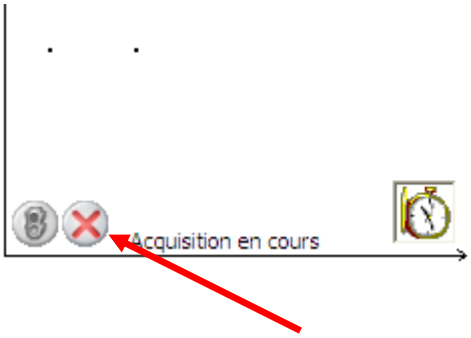
▪*on met en évidence l'apparition d'éthanol après la disparition du dioxygène.*

▪*Pour afficher les courbes sur deux graphiques différents, afin de pouvoir adapter les échelles, il suffit de cliquer sur l'icône affichage* 

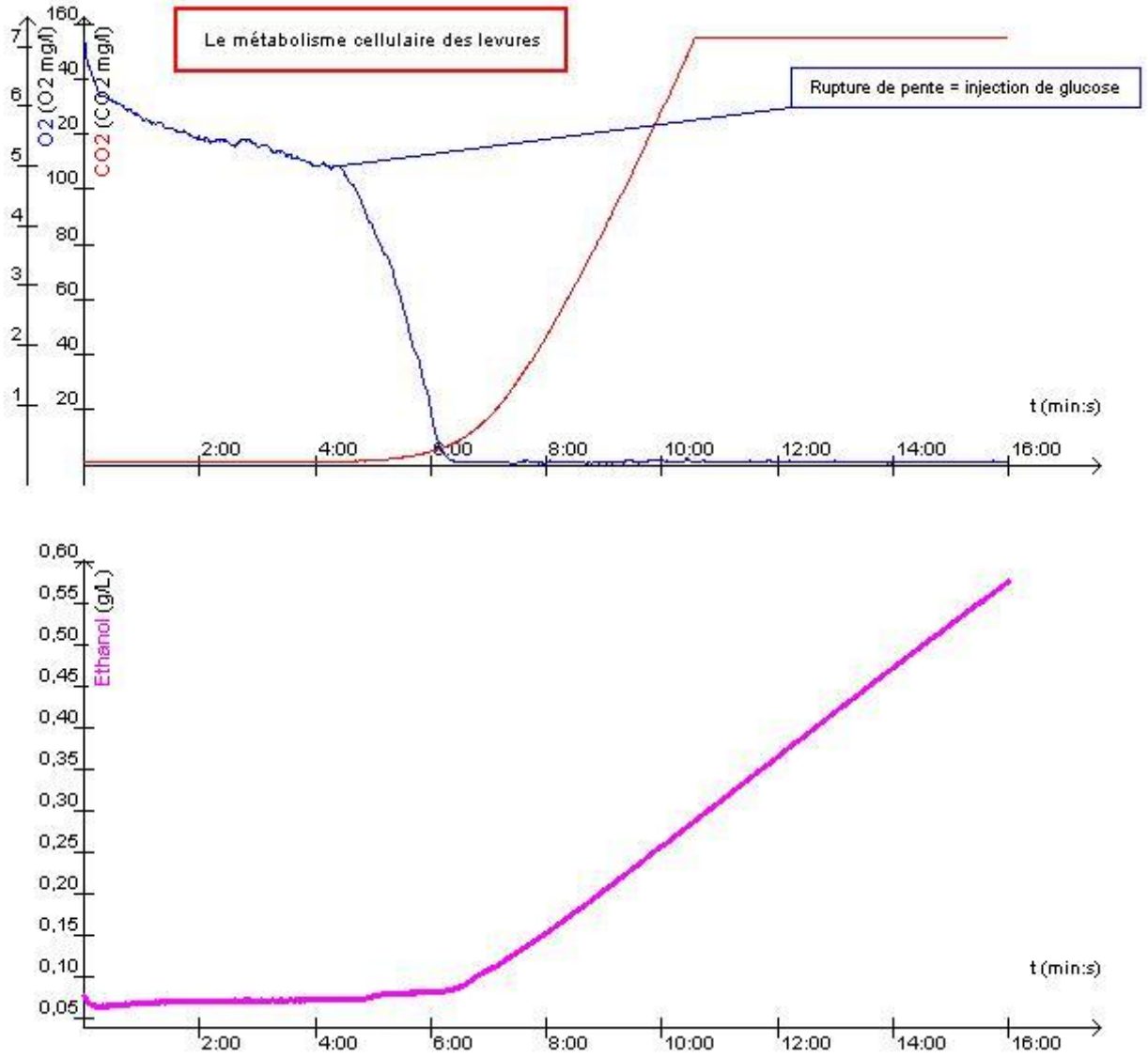
- *sélectionner la courbe éthanol par exemple, puis faire un clic droit*
- *cliquer ensuite sur « Afficher en bas »*



▪*Stopper la mesure en cliquant sur la croix rouge*



6 Exemple de résultats obtenus



NB : Le palier observé sur le taux de CO2 correspond au dépassement de la plage de mesure de la sonde CO2 dans un liquide ; ce dépassement n'endommage en rien la sonde.

LA REACTION DE HILL

Niveau : lycée- supérieur
Classe : Terminale S
Fiche professeur

1 Objectifs et principes

Lors de la photosynthèse il y a dégagement d'O2 (issu de l'eau), et le CO2 est réduit. Cette réduction se déroule dans le chloroplaste et nécessite de l'énergie. L'énergie lumineuse captée par les pigments chlorophylliens est convertie en énergie chimique et il y a acquisition d'un pouvoir réducteur par les cellules. La présence d'un accepteur d'électrons oxydé qui serait réduit par les électrons provenant de l'eau (en présence de lumière) peut être envisagée. Cette expérience (réaction de Hill) a pour but de vérifier l'existence de cette phase photochimique ou phase "claire" de la photosynthèse.

Dans les chloroplastes, l'accepteur d'électrons " physiologique " est le NADP+. Lors du broyage destiné à extraire les chloroplastes, ces derniers sont lésés et le NADP+ diffuse dans le milieu et disparaît. La chaîne réactionnelle est donc bloquée. L'adjonction d'un accepteur d'électrons, ici le ferricyanure de potassium, rétablit la chaîne réactionnelle et donc le dégagement d'O2, lors de l'illumination. Cette expérience réalisée pour la première fois par Hill démontre la réalité des processus d'oxydo-réduction liés à la conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique.

La mesure de l'évolution du taux de O_2 (production de O_2 = activité photosynthétique) dans une suspension de chloroplastes, se fait en présence ou en absence d'un accepteur d'électrons (le ferricyanure de potassium Fe^{3+}----> Fe^{2+}), et en alternant des phases d'éclairement et d'obscurité.

2 Mode opératoire

Durée de préparation de la séance :
2 h pour la mise en place du matériel des postes de travail, la préparation des solutions chimiques, le réglage des sondes, les tests.

Durée de réalisation en classe :
TP élève : 1 h 30 pour la réalisation et 0 h 30 pour l'exploitation des résultats.

Important :
Tout le matériel doit être refroidi (réfrigérateur) au moins 2 heures avant l'extraction : le bol du mortier, la cuve du bioréacteur, les tampons ainsi que les feuilles de végétal, puis remis au froid jusqu'au moment de la réalisation de l'expérience, de manière à ralentir la dégradation de la chlorophylle après extraction.

2.1 Préparation des solutions chimiques

A préparer par le personnel de laboratoire avant la séance et à maintenir au froid jusqu'à l'utilisation.

- Solution d'extraction des chloroplastes :
(concentration finale -"simple concentration")

Tampon phosphate pH 6,5 + saccharose (pour la pression osmotique) composé comme suit :

Hydrogénophosphate disodique : Na_2HPO_4,12H2O	à 0,2 mol.l^{-1}	soit 71,6 g.l^{-1}
Dihydrogénophosphate de potassium : KH_2PO_4	à 0,1 mol.l^{-1}	soit 13,6 g.l^{-1}
Saccharose	à 0,5 mol.l^{-1}	soit 171 g.l^{-1}

Mettre ces trois produits dans une fiole de 1 L. Dissoudre dans de l'eau distillée. Compléter la fiole jusqu'au trait de jauge. Il est utile de préparer une solution "*double concentration*" et de préparer la solution "*simple concentration* " en diluant celle-ci de moitié.

- Solution oxydante :

La solution doit être préparée juste avant son utilisation, et placée dans un flacon en verre marron (craint la lumière)…

Ferricyanure de potassium : K3 [Fe(CN)6]	à 0,2 mol.l^{-1}	soit 3,29 g / 50 ml

2.2 Préparation de la suspension de chloroplastes

(⚠ Préparer la suspension de chloroplastes juste avant d'effectuer les mesures⚠)

- Broyer 80 g de feuilles d'épinard refroidies dans le broyeur "fines herbes" (ou dans un mortier avec un peu de sable) dans un peu de tampon simple concentration, ajouter et mélanger le reste des 100 ml de milieu tampon simple concentration à pH 6,5.
- Filtrer sur un tampon de gaze pour éliminer les gros débris, dans un erlenmeyer.

NB : vous pouvez également utiliser une centrifugeuse: répartir le filtrat dans les tubes de centrifugation et centrifuger pendant 5 min à 1500 g

- Conserver les tubes contenant les suspensions de chloroplastes dans le bac de polystyrène contenant de la glace pilée. **Les en sortir au moins 15 min avant l'expérimentation de manière à débloquer les réactions enzymatiques.**

Vérification :

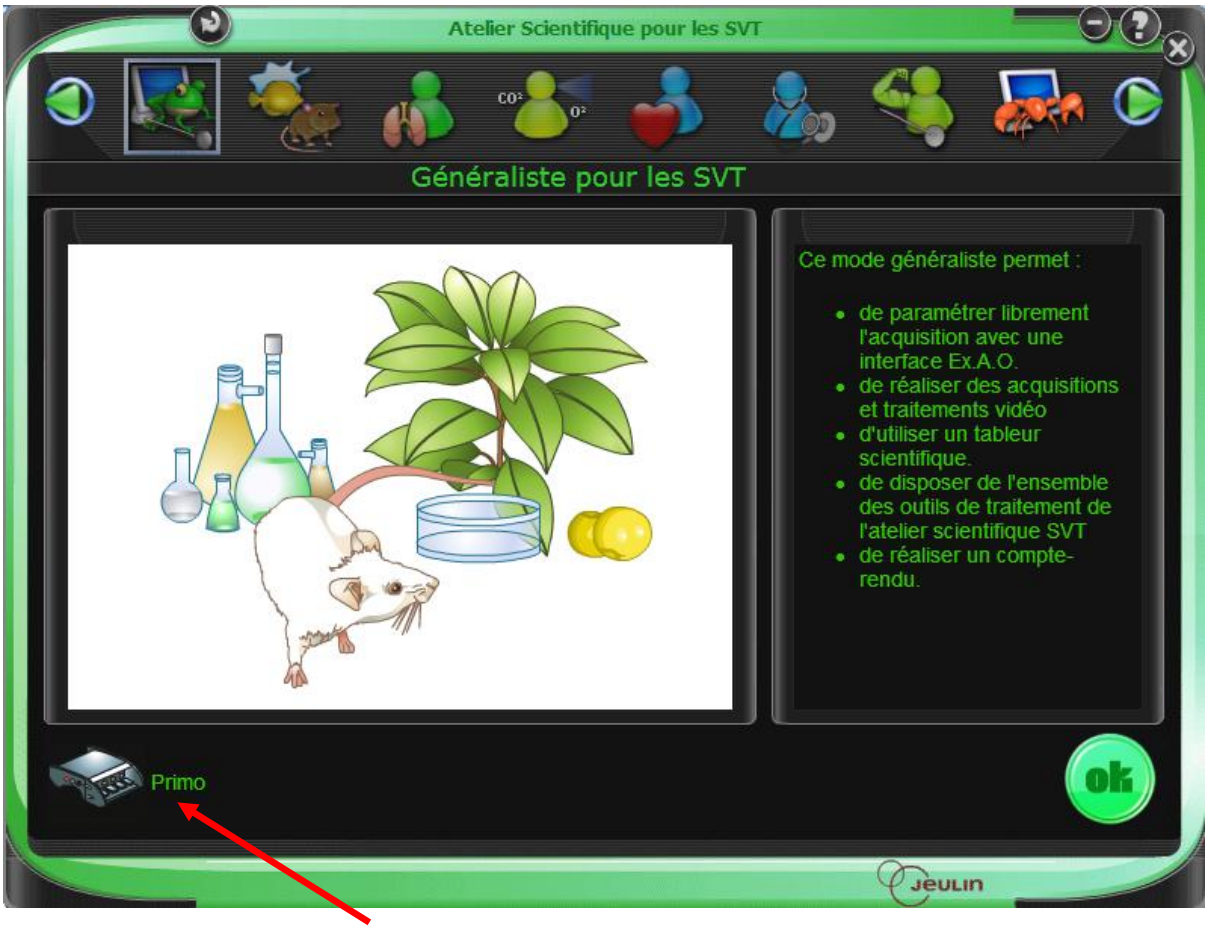
- Vérifier que les chloroplastes ne sont pas complètement détruits et que la chlorophylle n'est pas en solution ce qui entraînerait une fluorescence de la suspension.
- Observer au microscope la présence de chloroplastes et l'absence de cellules entières.

La durée de vie des chloroplastes étant très limitée dans le temps, préparer la suspension de chloroplastes juste avant l'emploi.

2.3 Montage

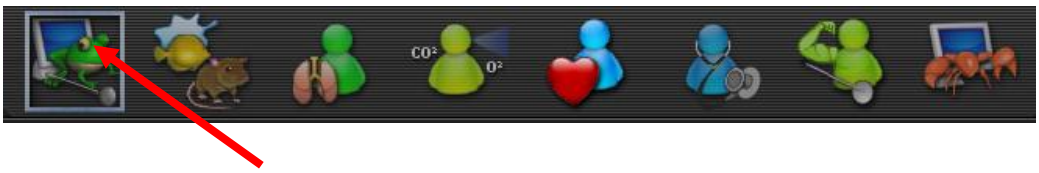
a) Brancher la sonde O_2 sur le capteur oxymètre
b) Connecter le capteur oxymètre sur l'une des 4 entrées de l'interface PRIMO
c) Vérifier que l'interrupteur sur le capteur oxymètre est sur la position air

d) Lancer l'Atelier Scientifique pour les SVT.

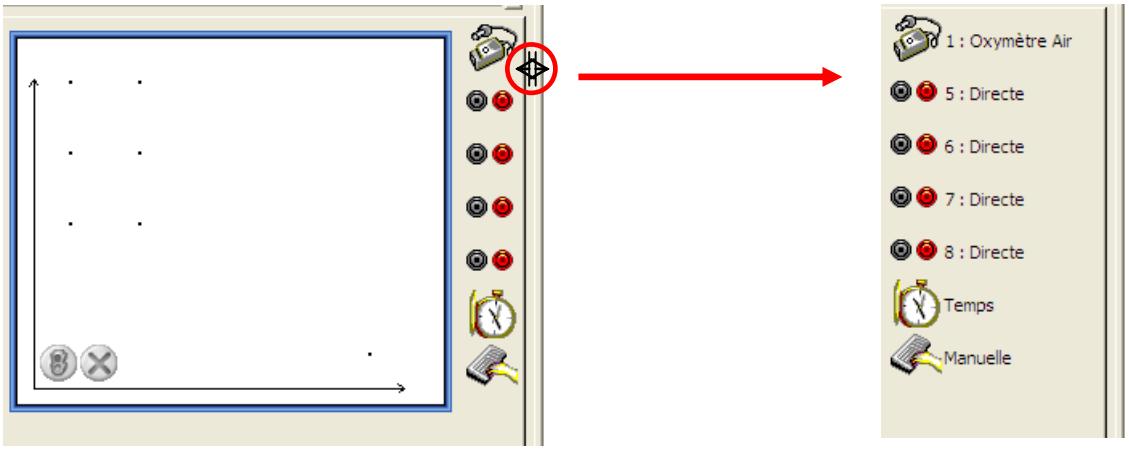

Atelier Scientifique pour les SVT
Généraliste pour les SVT
Ce mode généraliste permet :
de paramétrer librement l'acquisition avec une interface Ex.A.O.
de réaliser des acquisitions et traitements vidéo
d'utiliser un tableur scientifique.
de disposer de l'ensemble des outils de traitement de l'atelier scientifique SVT
de réaliser un compte-rendu.
Primo
ok
JEULIN

e) Vérifier que l'interface sélectionnée (en bas à gauche) est bien la console PRIMO (ou choix automatique)

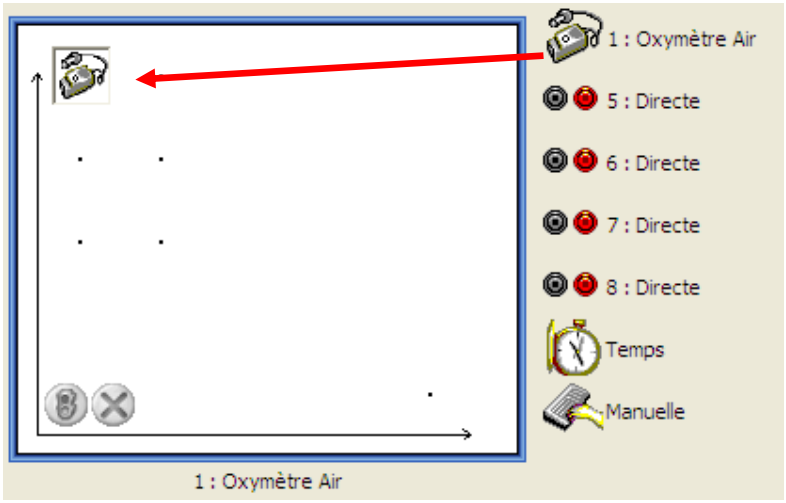
f) Double-cliquer sur l'icône correspondante au module « Généraliste pour les SVT »



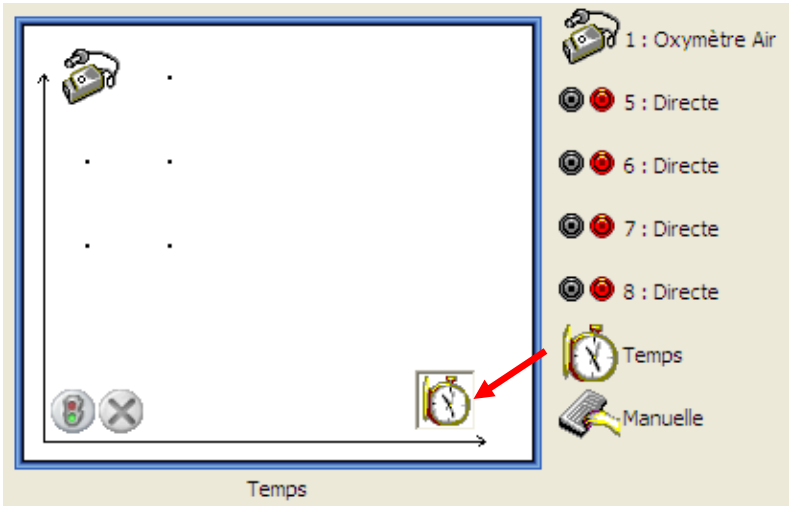
g) Dans la fenêtre qui s'ouvre, vous pouvez faire apparaître le nom des capteurs connectés à votre interface en positionnant la souris à droite des capteurs jusqu'à l'apparition d'une double flèche ⇹.
Faire un clic gauche et déplacer la souris vers la droite en maintenant ce clic.



h) Placer le capteur Oxymètre Air sur l'axe des ordonnées en cliquant sur l'icône « Oxymètre Air » puis en déplaçant la souris en maintenant ce clic.
Les 6 points d'accroche sur l'axe des ordonnées étant équivalents, vous pouvez donc placer le capteur oxymètre sur celui de votre choix.

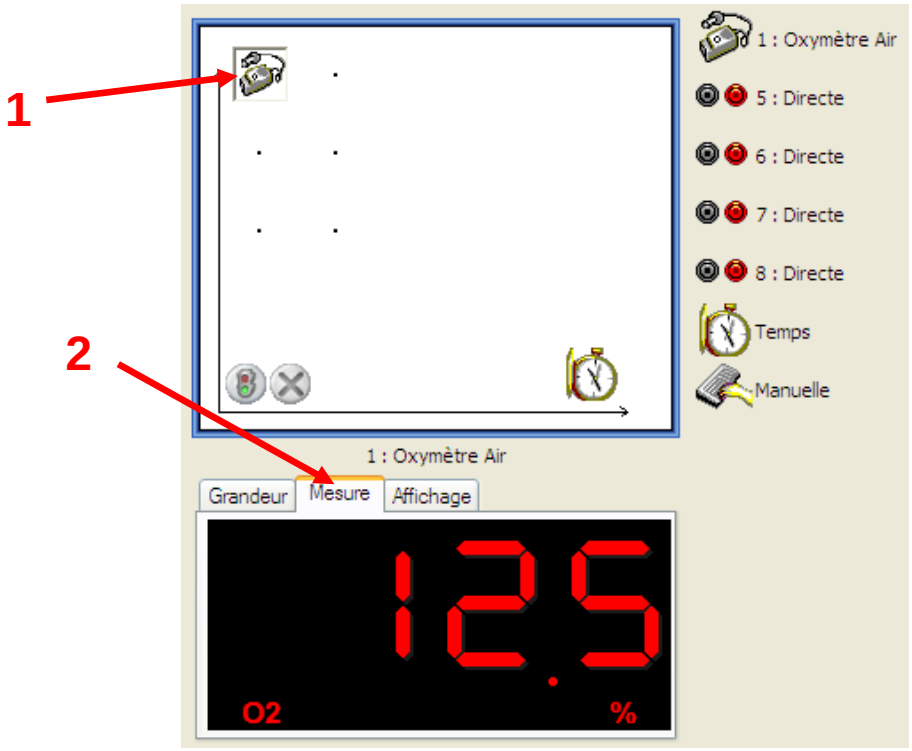


i) De même positionner l'icône « Temps » sur l'axe des abscisses

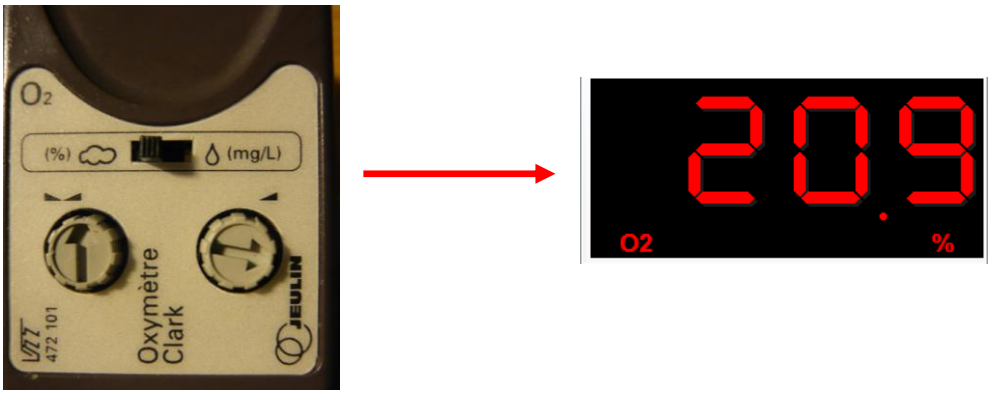


j) Etalonnage de la sonde :

- Cliquer sur l'icône oxymètre sur l'axe des ordonnées
- Cliquer ensuite sur l'onglet mesure

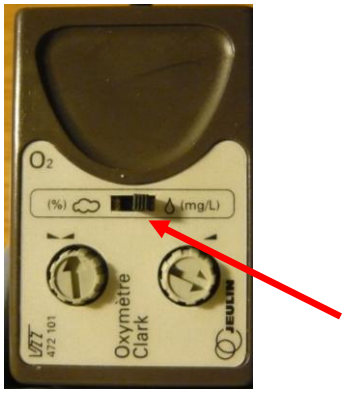


- Mettre la sonde dans l'air
- Positionner le bouton zéro (repéré par le symbole ◣◢) du capteur oxymètre en milieu de course
- Régler le bouton pente (repéré par le symbole ◣) de façon à obtenir 20,9 % sur l'onglet mesure.



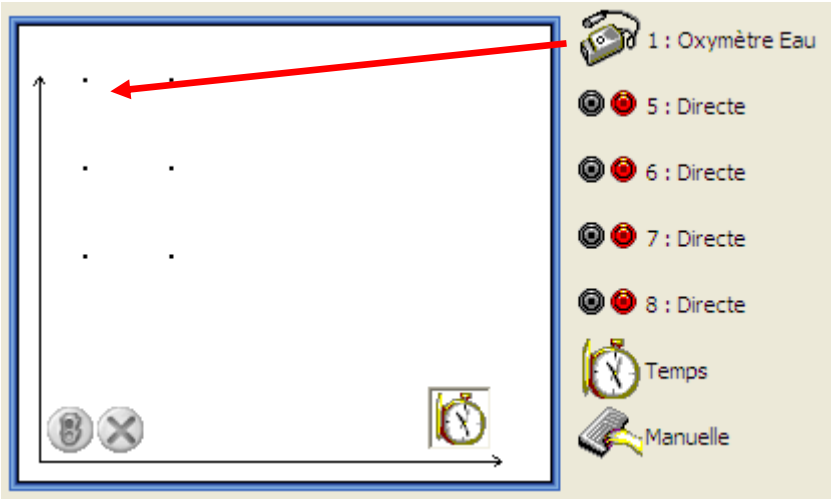
k) Paramétrage de la mesure :

- Basculer l'interrupteur du capteur oxymètre sur la position « eau »

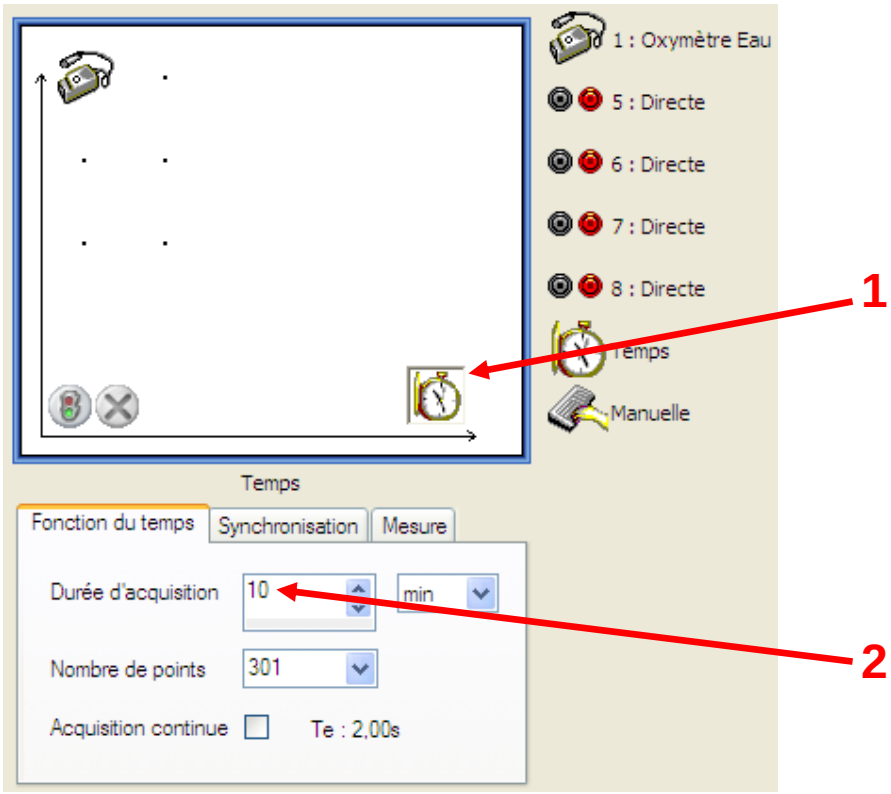


Remarque : sur le logiciel, l'icône « Oxymètre air » va disparaître de l'axe des ordonnées (cette fonctionnalité est prévue pour éviter les changements de calibre non voulus ; la sélection du calibre de la sonde étant déterminante pour la mesure de l'O_2 dissout dans l'eau).

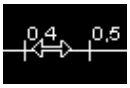
- Replacer l'icône « Oxymètre Eau » sur l'axe des ordonnées.



- Paramétrer la durée d'acquisition sur 10 min en cliquant sur l'icône « Temps » sur l'axe des abscisses



NB : on peut prolonger éventuellement l'acquisition en cours de manipulation en se plaçant sur l'axe des abscisses, le curseur « change » d'aspect (double flèche), il suffit alors de déplacer la souris vers la gauche.



2.4 Réalisation de l'expérience

- Pour récupérer les chloroplastes au fond des tubes de centrifugation, jeter l'essentiel du surnageant, en conserver un peu au fond du tube pour remettre en suspension les chloroplastes du culot à l'aide d'une pointe de pipette effilée

- Faire tomber le contenu du tube de centrifugation (ou de la décantation) dans la cuve du bioréacteur qui contient 5 ml d'eau distillée ainsi qu'un turbulent pour l'agitation. (Le choc osmotique fait éclater les chloroplastes et l'accepteur d'électron biologique présent se trouve ainsi très dilué, ce qui équivaut à sa disparition)

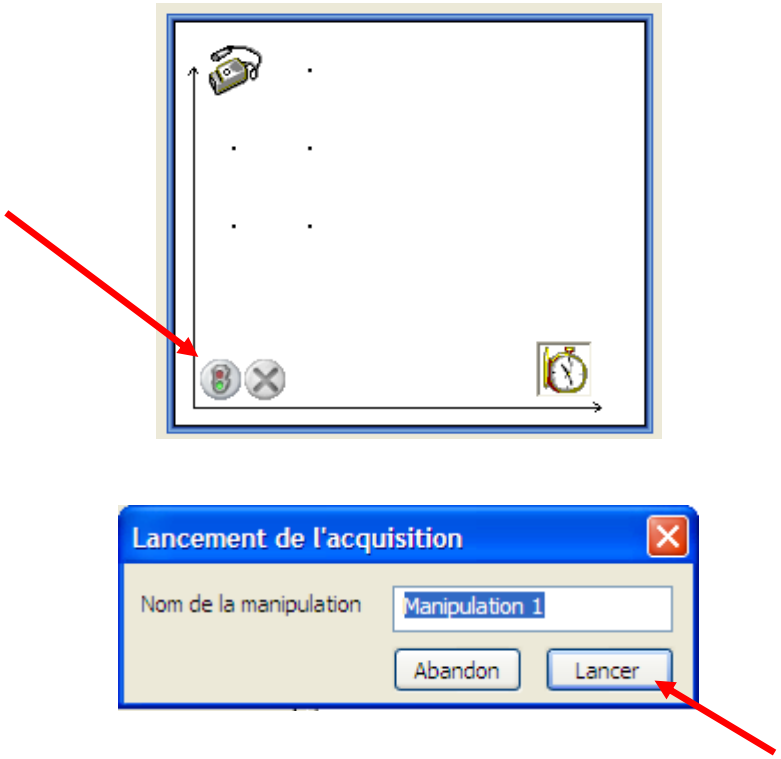
- Ajouter 5 ml de tampon double concentration pour rétablir la pression osmotique de départ

- Fermer le bioréacteur qui doit être rempli complètement de liquide. Faire attention de ne pas laisser de bulles d'air à l'intérieur de l'enceinte

- Placer la sonde 02 dans l'enceinte par l'un des emplacements situés dans le couvercle du bioréacteur. Eviter d'utiliser l'emplacement central sous lequel se trouve l'agitateur.
NB : La sonde O2 ne doit pas toucher le fond de la cuve du bioréacteur !

- Brancher le bioréacteur, lancer l'agitation et fermer les volets pour laisser la préparation à l'obscurité.

- Lancer la mesure en cliquant sur le feu vert puis en cliquant sur le bouton « Lancer »



- Laisser se dérouler l'expérience pendant environ 1 min à l'obscurité.

- Allumer la lampe, la placer à une dizaine de cm du bioréacteur puis ouvrir les volets.

- Laisser se dérouler l'expérience environ 1 min à la lumière.

- Au temps 3 min, injecter (à l'aide d'une seringue de 1 ml munie d'un cathéter) **0,5 ml de ferricyanure de potassium** dans la cuve du bioréacteur.
NB : un petit orifice est prévu à cet effet dans le couvercle du bioréacteur, ce qui évite d'ouvrir le couvercle…

- Mettre un repère sur l'axe des temps, en appuyant sur la barre d'espace puis laisser se dérouler l'expérience pendant 2 min puis refermer les volets.

- Laisser se dérouler l'expérience environ 2 min à l'obscurité puis ouvrir les volets.

- Laisser se dérouler l'expérience à la lumière pendant 2 min. Au temps 8 min injecter une nouvelle dose de ferricyanure de potassium

- Terminer à la lumière.

- Stopper la mesure en cliquant sur la croix rouge

2.5 Variations du protocole

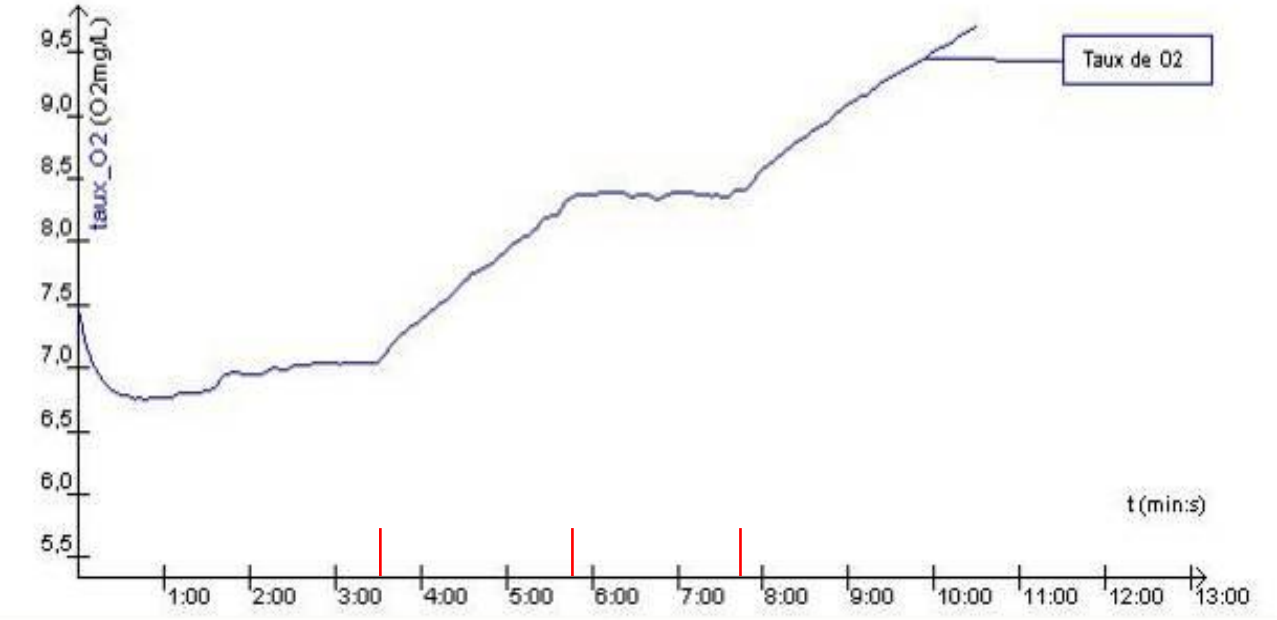
- Les tubes de centrifugation contenant les chloroplastes qui ont sédimenté peuvent être fournis déjà prêts aux élèves dans ce cas la manipulation débute à "Pour récupérer les chloroplastes…".

- **Les périodes de mesures à la lumière et à l'obscurité peuvent être allongées si les variations attendues ne sont pas constatées**. Il est possible de terminer la mesure à l'obscurité. Il est préférable d'afficher en début de manipulation une durée de mesure supérieure à 10 min. Attention cependant à ne pas faire durer trop longtemps la mesure à la lumière en présence de ferricyanure de potassium car le dégagement d'O2 peut saturer le milieu et provoquer le blocage de la sonde.

- La réaction de Hill peut être réalisée dans l'ancien bioréacteur. Dans ce cas le volume de l'enceinte est à régler à 2,5 ml. Le volume d'eau mis dans l'enceinte au départ est de 1,5 ml et la pression osmotique initiale est rétablie en ajoutant 1,5 ml de tampon double concentration. Une injection de 0,2 ml de ferricyanure de potassium suffit pour observer un dégagement d'O2.

- Au départ, une légère baisse du taux d'O_2 à l'obscurité est généralement observée et elle se poursuit à la lumière.
- La remontée du taux d'O_2 un peu après l'injection du ferricyanure de potassium, s'interrompt lorsqu'on passe de la lumière à l'obscurité.

2.6 Exemple de résultats attendus



- **Explication et interprétation de ces résultats**

- L'**augmentation de la concentration en dioxygène** dans les phases d'éclairement et de présence d'accepteur d'électrons, correspond à l'activité photosynthétique (phase "claire").
- Une **diminution de la concentration en dioxygène** dans les phases d'obscurité ou d'absence d'accepteurs d'électrons correspond à l'activité respiratoire.
- En réalité, l'activité photosynthétique plus importante masque l'activité respiratoire. Les mitochondries présentes dans le culot assurent en permanence l'activité respiratoire.

- **Astuces**

- Maintenir au froid le bol du broyeur, la cuve du bioréacteur, les tampons ainsi que les feuilles de végétal, jusqu'au moment de la réalisation de l'expérience.

- Il est possible d'utiliser d'autres tissus végétaux que l'épinard pour réaliser l'extraction des chloroplastes tels le poireau, le cresson, l'ortie, l'oseille sauvage (Rumex).

- L'injection de ferricyanure peut être augmentée mais des injections trop importantes (> à 2 ml) semblent bloquer parfois tout le fonctionnement.

- Les 500 ml de tampon "double concentration" réalisés au départ, permettent de disposer de solutions tampons simple et double concentration pour une séance de TP avec 9 postes de travail. Répartir les solutions tampons dès leur préparation dans des flacons (5 ml / flacon pour le tampon double concentration et 100 ml / flacon pour le tampon simple concentration). Répartir la solution oxydante dans des flacons bruns (10 ml / flacon).

- En début de séance, s'assurer que la centrifugeuse tourne avec toutes les gaines remplies : ceci permet à 5 postes de travail de disposer rapidement d'au moins deux tubes avec culot de chloroplastes.

La réalisation de cette expérience, depuis l'extraction des chloroplastes, par les élèves, est possible avec la durée des séances de TP de 2 heures en TS spécialité SVT. Par ailleurs, la réalisation de la suspension de chloroplastes concrétise la réalisation de la technique de séparation par centrifugation souvent évoquée en biologie cellulaire, au cours d'une séance où diverses capacités de manipulation sont mises en œuvre. Cette séance peut prendre sa place après la découverte de l'organisation et du rôle des chloroplastes et la présentation des expériences de Ruben et Kamen.

- Avec l'observation des chloroplastes, cette expérience permet de bien établir la relation entre structure et fonction : phase claire au niveau des thylakoïdes et phase sombre au niveau du stroma du chloroplaste.

2.7 Problèmes éventuels

- Si la production d'O_2 en présence de lumière et de ferricyanure est insuffisante, utiliser plusieurs culots de chloroplastes. Le volume de la cuve est de 10 ml et dans ce cas le volume total de liquide provoquera des débordements sans conséquence lors de la mise en place du couvercle du bioréacteur.
- Eviter l'injection trop brutale du ferricyanure de potassium qui risquerait de provoquer un artéfact au niveau du tracé de la courbe d'O_2 ; Cet artéfact peut également s'observer si bulles d'air dans le cathéter placé à l'extrémité de la seringue de 1 ml n'ont pas été évacuées.

3 Un peu d'histoire

Vers 1900, l'état des connaissances sur la photosynthèse pouvait être représenté par l'équation suivante :

	lumière		
CO_2 + H_2O	→	(CH_2O) + O_2	($\Delta G'$ = + 115 kcal)
	chlorophylle		

*réaction endergonique qui ne peut être réalisée que par l'apport d'énergie lumineuse captée par la chlorophylle

Dès 1905, un chercheur britannique en physiologie végétale, F.F. Blackman, interprétait la forme des courbes de saturation lumineuse (plateau de la courbe de l'IP en fonction de l'éclairement au delà de 10 000 Lux) en émettant l'hypothèse que la photosynthèse est un mécanisme à deux étapes, comportant une réaction photochimique ou réaction "claire" et une réaction non photochimique ou réaction "sombre". La réaction sombre est enzymatique et plus lente que la réaction claire, ceci a pour conséquence qu'aux intensités lumineuses élevées la vitesse de la photosynthèse dépend entièrement de la vitesse de la réaction sombre. La réaction claire est peu ou pas sensible à la température contrairement à la réaction sombre ; cette sensibilité à la température est caractéristique des réactions enzymatiques. Il faut bien comprendre que la réaction dite sombre peut se produire aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité. Avant 1930, nombre de chercheurs pensaient que la réaction fondamentale de la photosynthèse était un fractionnement du gaz carbonique en carbone et oxygène sous l'action de la lumière, et que le carbone était ensuite réduit par l'eau en glucides au cours d'une autre série de réactions. Deux découvertes importantes modifient cette idée vers 1930. La première découverte mit en évidence que certaines bactéries assimilaient le gaz carbonique et synthétisaient des glucides sans utiliser d'énergie lumineuse (par chimiosynthèse). En effectuant une étude comparative des photosynthèses végétale et bactérienne, le microbiologiste hollandais C.B. Van Niel montra que certaines bactéries pouvaient assimiler le gaz carbonique, à la lumière sans produire d'oxygène et qu'en l'absence d'un substrat donneur d'hydrogène, la photosynthèse de ces bactéries était stoppée. Selon Van Niel, la photosynthèse pouvait être représentée par l'équation générale suivante où H_2 A est le substrat oxydable :

	lumière	
$CO_2 + H_2A$	→	$(CH_2O) + H_2O + 2A$
	chlorophylle	

Van Niel suggéra que la photosynthèse des plantes et algues vertes constituait un cas particulier où H_2A était H_2O et où 2A était O_2. Dans la photosynthèse végétale, l'opération fondamentale serait le fractionnement de l'eau en un oxydant (OH) et un réducteur (H). Le réducteur (H) servirait alors à la réduction du CO_2, pour aboutir aux constituants de la cellule, cependant que l'oxydant (OH) serait éliminé par une réaction où il y aurait libération d'oxygène et formation d'eau (H_2O). Selon Van Niel, l'équation globale de la photosynthèse des plantes vertes est donc :

	lumière	
$CO_2 + 4\ H_2O$	→	$(CH_2O) + 3H_2O + O_2$
	chlorophylle	

Cette équation est la somme de trois étapes distinctes suivantes :

		lumière	
(1)	$4H_2O$	→	4 (OH) + 4H
		pigments verts	
(2)	$4H + CO_2$	→	$(CH_2O) + H_2O + O_2$
(3)	4 (OH)	→	$2\ H_2O + O_2$

La séquence des réactions montre clairement que l'oxygène produit vient de l'eau et non du gaz carbonique. En 1937, la seconde observation importante fut réalisée par R. Hill, de l'université de Cambridge. Il sépara les particules photosynthétiques de feuilles vertes (chloroplastes) des particules respiratoires (mitochondries) par centrifugation différentielle d'un homogénat de tissus de feuilles. Une fois éclairés seuls, les chloroplastes de Hill ne produisirent pas d'oxygène (peut-être parce qu'ils avaient été endommagés par la séparation) ; par contre, lorsque des accepteurs d'électrons (oxydants) comme le ferrioxalate de potassium ou le ferricyanure de potassium furent ajoutés à la suspension, il y eut production d'O_2, à raison d'une molécule pour quatre équivalents d'oxydant réduits photochimiquement. Cependant, les chloroplastes ne parvenaient pas à réduire le CO_2, qui est l'accepteur d'électrons naturel de la photosynthèse. Ce phénomène, connu maintenant sous le nom de réaction de Hill, consiste en un transfert d'électrons, sous l'action de la lumière, de l'eau vers des oxydants non physiologiques (réactifs de Hill), contre le gradient de potentiel chimique. L'intérêt de la réaction de Hill est de démontrer que la production d'oxygène par la photosynthèse se fait séparément de la réduction du gaz carbonique. En 1941, Ruben et Kamen en Californie, prouvèrent que l'oxygène produit au cours de la photosynthèse provenait de la décomposition de l'eau. Ils ont placé des cellules photosynthétiques dans de l'eau enrichie en oxygène (^{18}O isotope de l'oxygène). L'oxygène dégagé avait la même composition isotopique que l'oxygène de l'eau et cette composition n'était pas celle de l'oxygène du gaz carbonique utilisé.

$CO_2 + 2\ H_2{}^*O$	→	$^*O_2 + (CH_2O) + H_2O$

Kamen et Ruben ont également découvert le carbone 14 (^{14}C, isotope radioactif du carbone) qui a servi à Bassham, Benson et Calvin en Californie, pour suivre le cheminement du carbone dans la photosynthèse. Calvin et ses collaborateurs ont montré que la réduction du gaz carbonique en glucides était le fait de réactions enzymatiques "sombres", et que, pour réduire une molécule de CO_2, il fallait deux molécules de pyridine nucléotide réduit ($NADPH_2 = RH_2$) et trois molécules d'ATP. Le rôle des pyridines nucléotides et de l'ATP dans la respiration cellulaire était déjà établi à l'époque. En 1951, trois laboratoires mirent en évidence la réduction photosynthétique de NADP en NADPH, par des chloroplastes isolés, avec production simultanée d'O_2. En 1954, Arnon, Allen et Whatley ont réalisé une photosynthèse sans cellule, c'est-à-dire l'assimilation de CO_2, et la production d'O_2, par des chloroplastes d'épinard isolés. En 1958, Arnon et ses collaborateurs démontrèrent en séparant physiquement les deux phases, que la phase claire de la réaction globale de fixation et de réduction du CO_2 en glucides se produit dans les lamelles granaires (ou disques thylakoïdes) du chloroplaste, alors que la phase sombre se déroule dans le stroma. Ils ont éclairé des chloroplastes en l'absence de CO_2, et laissé se former de grandes quantités de $NADPH_2$ et d'ATP, avec production concomitante d'oxygène. Ils ont ensuite cassé les chloroplastes et séparé le stroma des lamelles qu'ils ont jetées. A l'obscurité, le stroma a été alimenté en $^*CO_2$ radioactif et les enzymes présentes ont effectué l'assimilation du CO_2, aboutissant aux mêmes glucides que les chloroplastes entiers et les feuilles vertes intactes.

	$^{14}CO_2$ fixé (coups par minute)
1. Stroma (à l'obscurité)	4000
2. Stroma (à l'obscurité) + grana (à la lumière)	96000
3. Stroma (à l'obscurité) + ATP	43000
4. Stroma (à l'obscurité) + $NADPH_2$ + ATP	97000

TABLEAU - Fixation du gaz carbonique à l'obscurité et à la lumière dans les chloroplastes, par le stroma (matrice jaunâtre) et par les granas (membranes vertes, contenant de la chlorophylle).

Ces expériences ont très clairement montré que tous les transporteurs et enzymes nécessaires à la formation des composés réduits ($NADPH_2$), et d'ATP au cours des transports des électrons (sous l'action de la lumière) sont liés aux membranes du chloroplaste. Les enzymes responsables de la fixation proprement dite du CO_2 sont quant à elles situées dans le stroma, amorphe et jaunâtre.

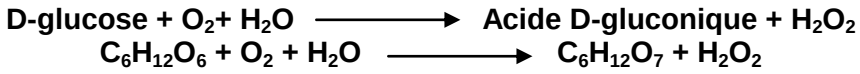
ETUDE DE CINETIQUE ENZYMATIQUE PAR OXYMETRIE

1 Objectif

Montrer la spécificité de substrat et d'action d'un enzyme et faire l'étude des facteurs influençant la réaction enzymatique (Substrat, température, pH)

2 Oxydation du glucose par la glucose oxydase (GOD)

La glucose oxydase est une enzyme catalysant l'oxydation aérobie du D-glucose.
Cette oxydation consomme de l'oxygène et produit du gluconolactone (qui se transforme spontanément en acide gluconique) et du peroxyde d'hydrogène.



On va donc mesurer la disparition de l'oxygène en fonction du temps.

vitesse d'une réaction enzymatique :

Calcul de la vitesse de la réaction enzymatique : elle correspond à la vitesse de disparition d'un des substrats (ici l'O_2).

Dans ce TP, on mesurera l'influence de la concentration en substrat (glucose) sur la vitesse de la réaction enzymatique pour une concentration en enzyme constante. $V = \left|\frac{dO2}{dT}\right|$

cette valeur correspond à la pente de la courbe étudiée.

3 Protocole expérimental

3.1 Mise en évidence de l'influence de la concentration en substrat sur la vitesse de réaction enzymatique

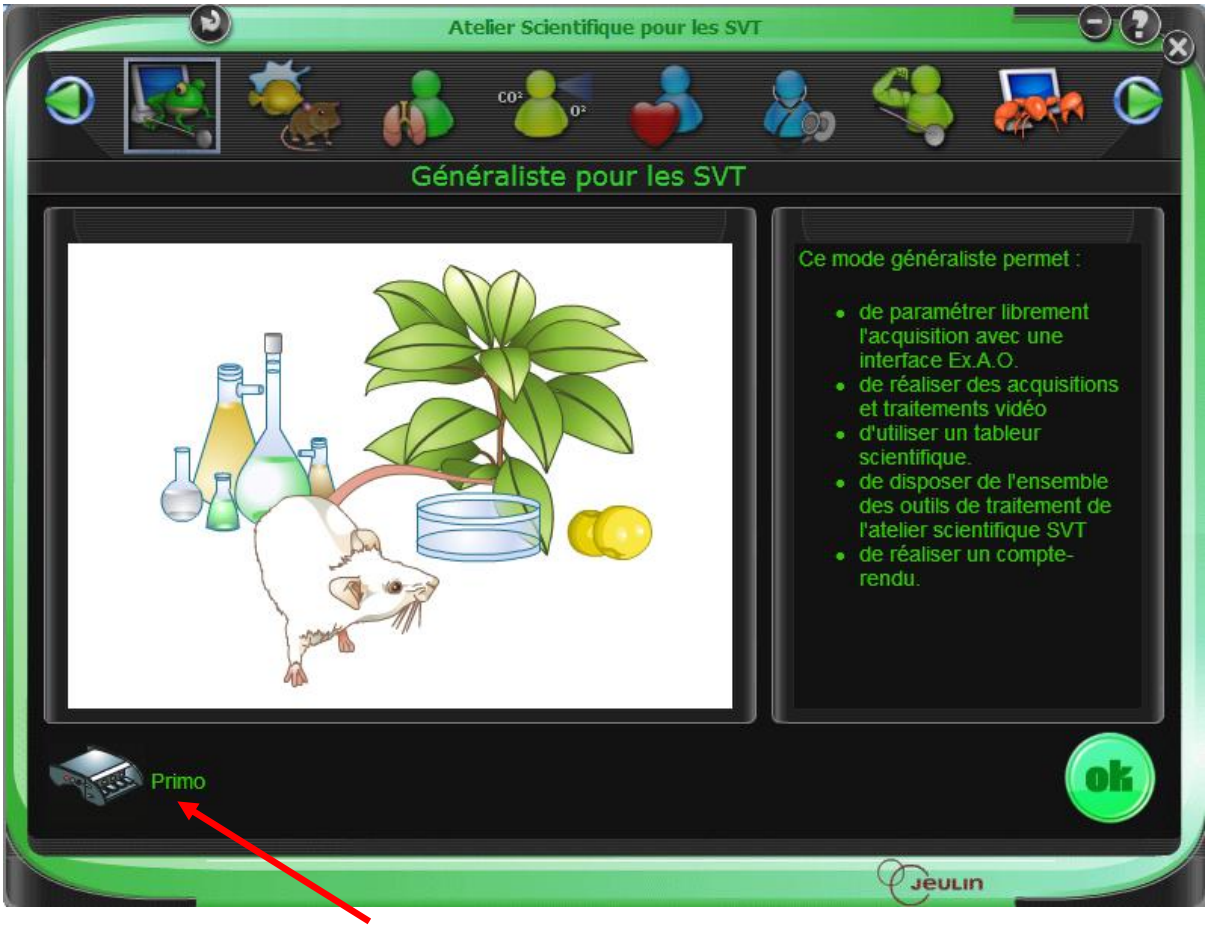
3.1.1 Préparation des solutions

- Préparer des solutions de glucose de concentrations différentes (ex : 0.001, 0.1, 0.5 et 1M)
- Préparer une solution d'enzyme : une pointe de scalpel dans 10 ml d'eau *(il n'est pas possible de donner une concentration exacte car la GOD n'est pas pure ; il n'y a pas proportionnalité entre la masse de GOD et le nombre d'unités d'enzyme)*. La couleur finale de la solution ressemble à celle du blanc d'œuf cru

3.1.2 Paramétrage de l'acquisition

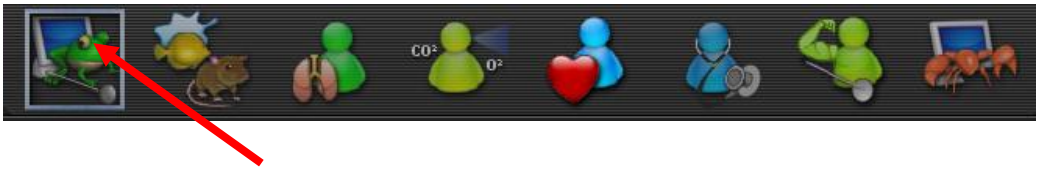
a) Brancher la sonde O_2 sur le capteur oxymètre
b) Connecter le capteur oxymètre sur l'une des 4 entrées de l'interface PRIMO
c) Vérifier que l'interrupteur sur le capteur oxymètre est sur la position air

d) Lancer l'Atelier Scientifique pour les SVT.

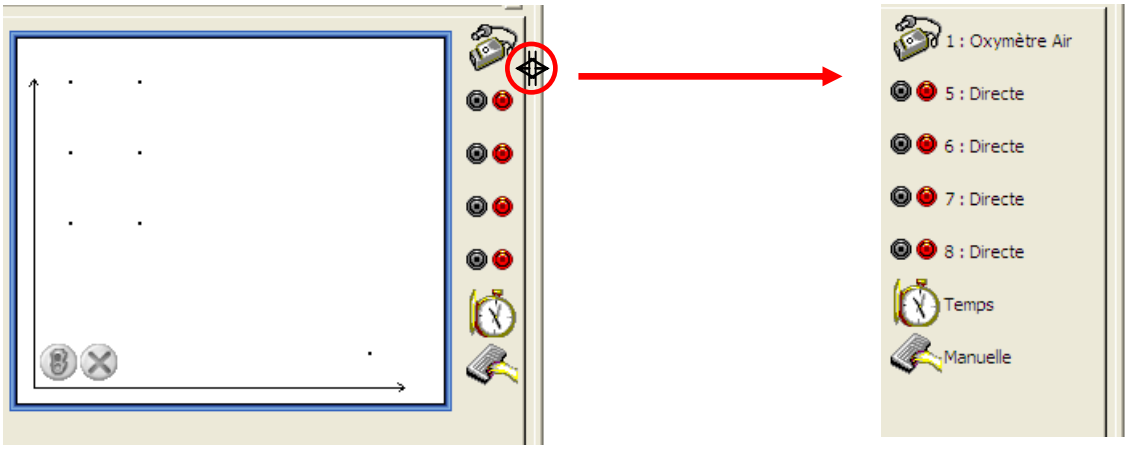

Atelier Scientifique pour les SVT
Généraliste pour les SVT
Ce mode généraliste permet :
de paramétrer librement l'acquisition avec une interface Ex.A.O.
de réaliser des acquisitions et traitements vidéo
d'utiliser un tableur scientifique.
de disposer de l'ensemble des outils de traitement de l'atelier scientifique SVT
de réaliser un compte-rendu.
Primo
ok
JEULIN

e) Vérifier que l'interface sélectionnée (en bas à gauche) est bien la console PRIMO (ou choix automatique)

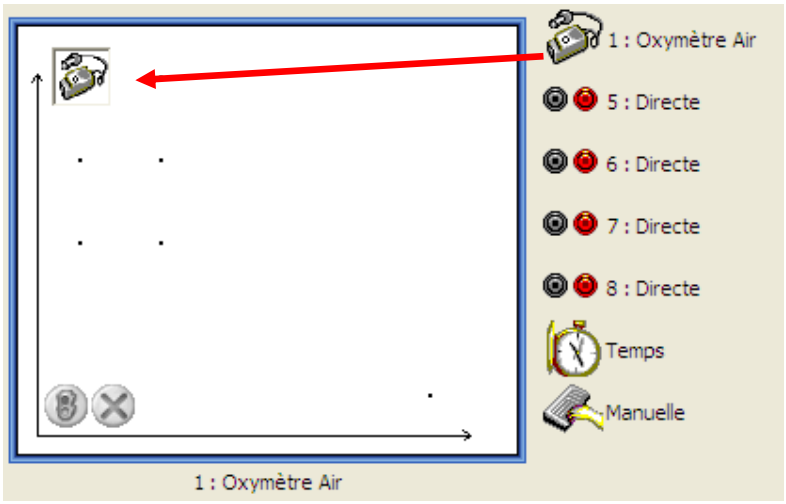
f) Double-cliquer sur l'icône correspondante au module « Généraliste pour les SVT »



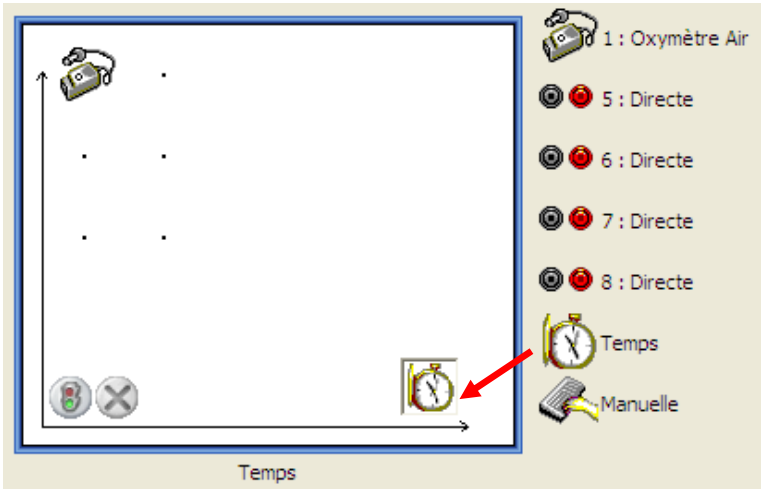
g) Dans la fenêtre qui s'ouvre, vous pouvez faire apparaître le nom des capteurs connectés à votre interface en positionnant la souris à droite des capteurs jusqu'à l'apparition d'une double flèche ⇹.
Faire un clic gauche et déplacer la souris vers la droite en maintenant ce clic.



h) Placer le capteur Oxymètre Air sur l'axe des ordonnées en cliquant sur l'icône « Oxymètre Air » puis en déplaçant la souris en maintenant ce clic.
Les 6 points d'accroche sur l'axe des ordonnées étant équivalents, vous pouvez donc placer le capteur oxymètre sur celui de votre choix.

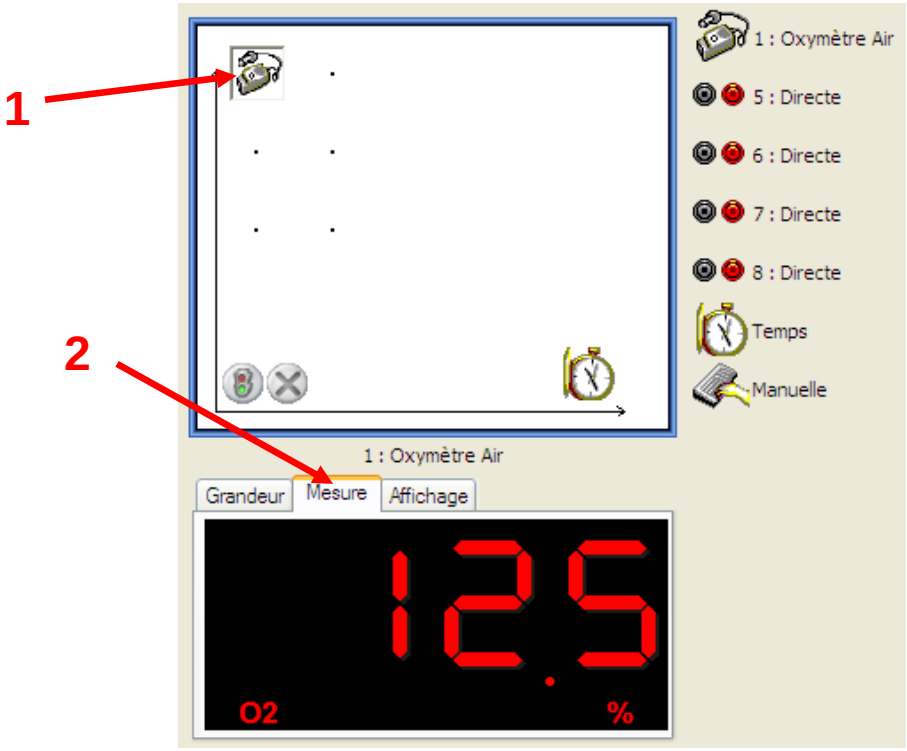


i) De même positionner l'icône « Temps » sur l'axe des abscisses



j) Etalonnage de la sonde :

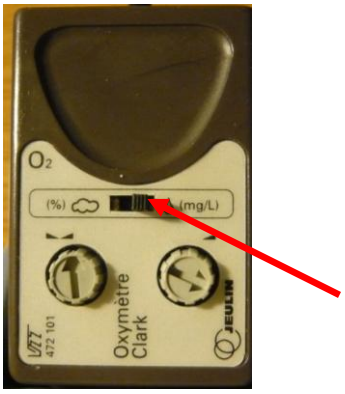
- Cliquer sur l'icône oxymètre sur l'axe des ordonnées
- Cliquer ensuite sur l'onglet mesure



- Mettre la sonde dans l'air
- Positionner le bouton zéro (repéré par le symbole ◣◢) du capteur oxymètre en milieu de course
- Régler le bouton pente (repéré par le symbole ◣) de façon à obtenir 20,9 % sur l'onglet mesure.

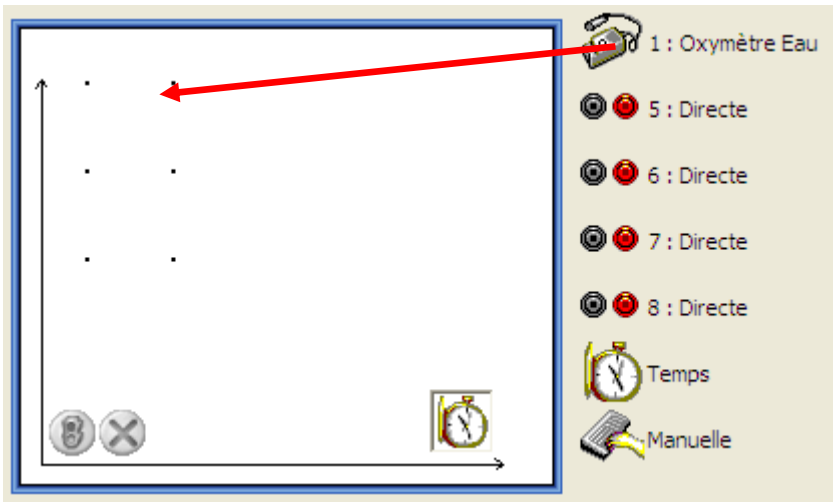
k) Paramétrage de la mesure :

- Basculer l'interrupteur du capteur oxymètre sur la position « eau »

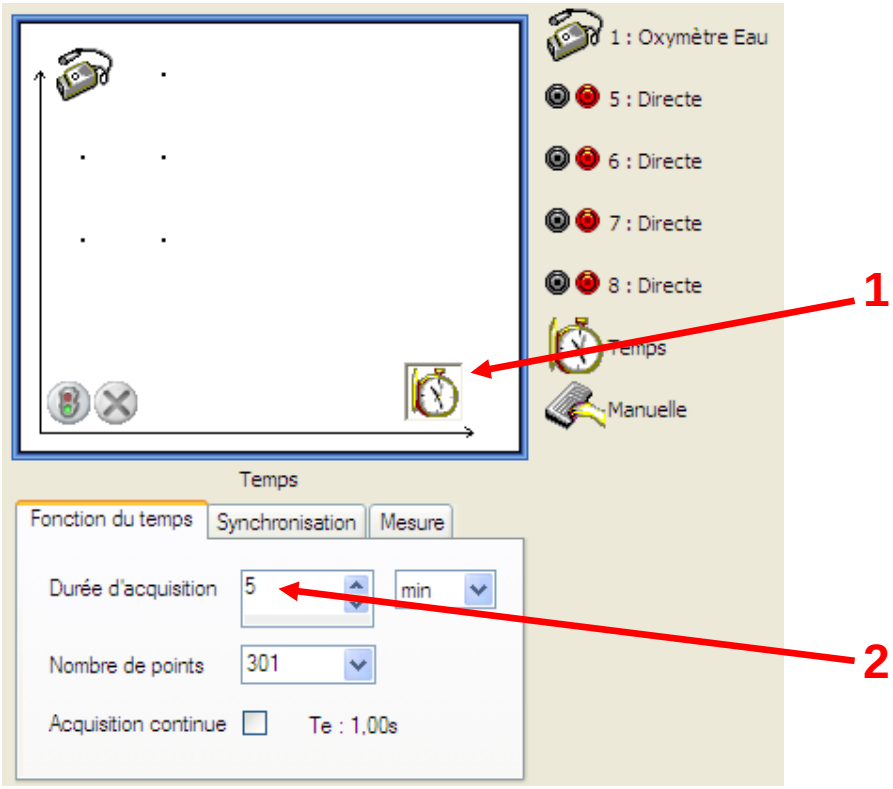


Remarque : sur le logiciel, l'icône « Oxymètre air » va disparaître de l'axe des ordonnées (cette fonctionnalité est prévue pour éviter les changements de calibre non voulus ; la sélection du calibre de la sonde étant déterminante pour la mesure de l'O_2 dissout dans l'eau).

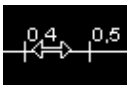
- Replacer l'icône « Oxymètre Eau » sur l'axe des ordonnées.



- Paramétrer la durée d'acquisition sur 5 min en cliquant sur l'icône « Temps » sur l'axe des abscisses



NB : on peut prolonger éventuellement l'acquisition en cours de manipulation en se plaçant sur l'axe des abscisses, le curseur « change » d'aspect (double flèche), il suffit alors de déplacer la souris vers la gauche.



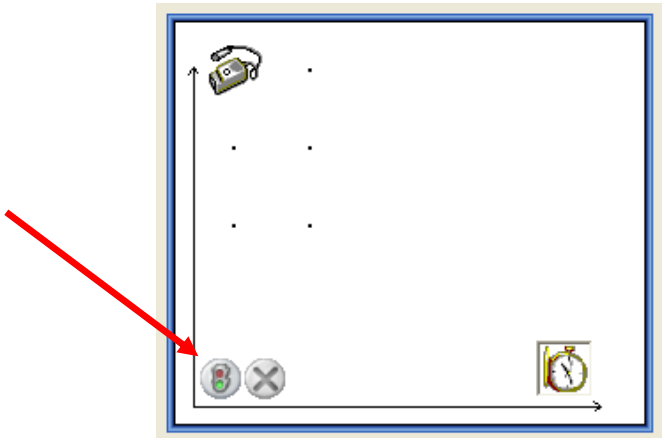
3.1.3 Réalisation de l'expérience

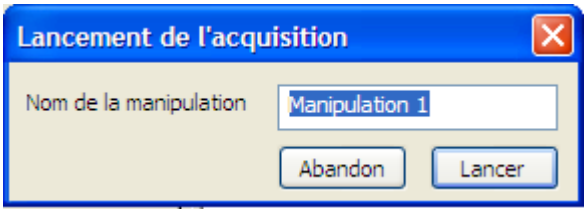
- Remplir la cuve du bioréacteur avec la solution de glucose 0,001 M de façon à faire déborder la cuve une fois le couvercle positionnée.

- Brancher le bioréacteur et lancer l'agitation

- Placer la sonde 02 dans l'enceinte par l'un des emplacements situés dans le couvercle du bioréacteur. Eviter d'utiliser l'emplacement central sous lequel se trouve l'agitateur.
NB : La sonde O2 ne doit pas toucher le fond de la cuve du bioréacteur !

- Lancer la mesure en cliquant sur le feu vert puis en cliquant sur le bouton « Lancer »





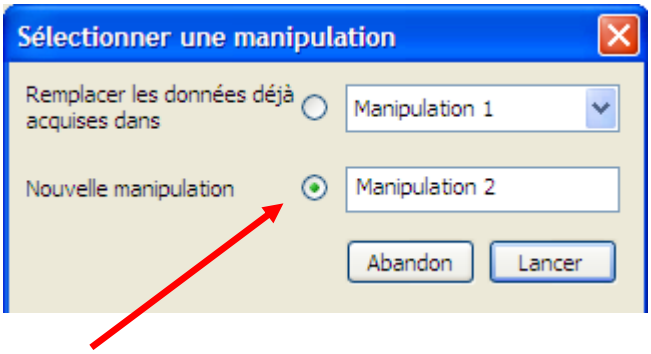
- Au temps 1 min, injecter (à l'aide d'une seringue de 1 ml munie d'un cathéter) **0,1 ml de GOD** dans la cuve du bioréacteur.
NB : un petit orifice est prévu à cet effet dans le couvercle du bioréacteur, ce qui évite d'ouvrir le couvercle…

- Mettre un repère sur l'axe des temps, en appuyant sur la barre d'espace

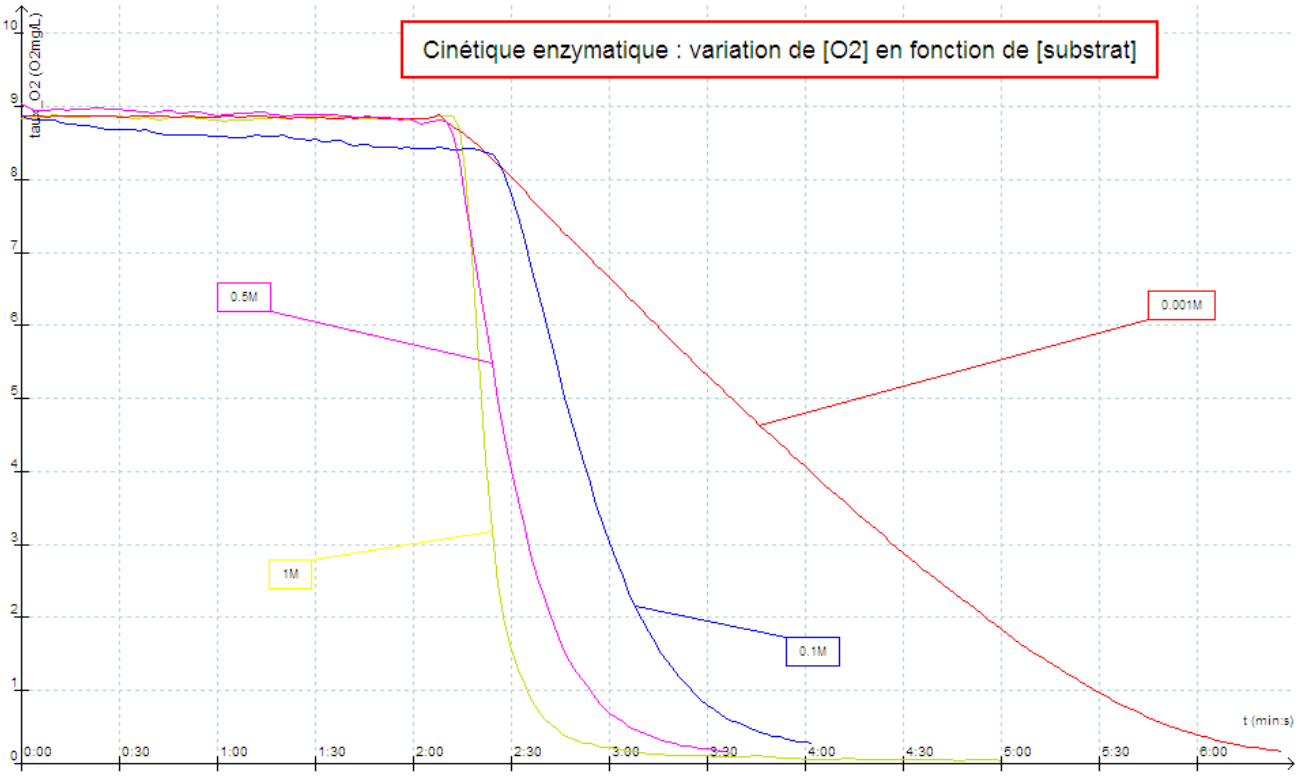
- Stopper la mesure en cliquant sur la croix rouge

N.B. : une fois l'expérience terminée, enlever le couvercle de l'enceinte et rincer très soigneusement à l'eau distillée, la sonde, l'agitateur, le couvercle et la cuve. Il faut en effet enlever toute trace de GOD.

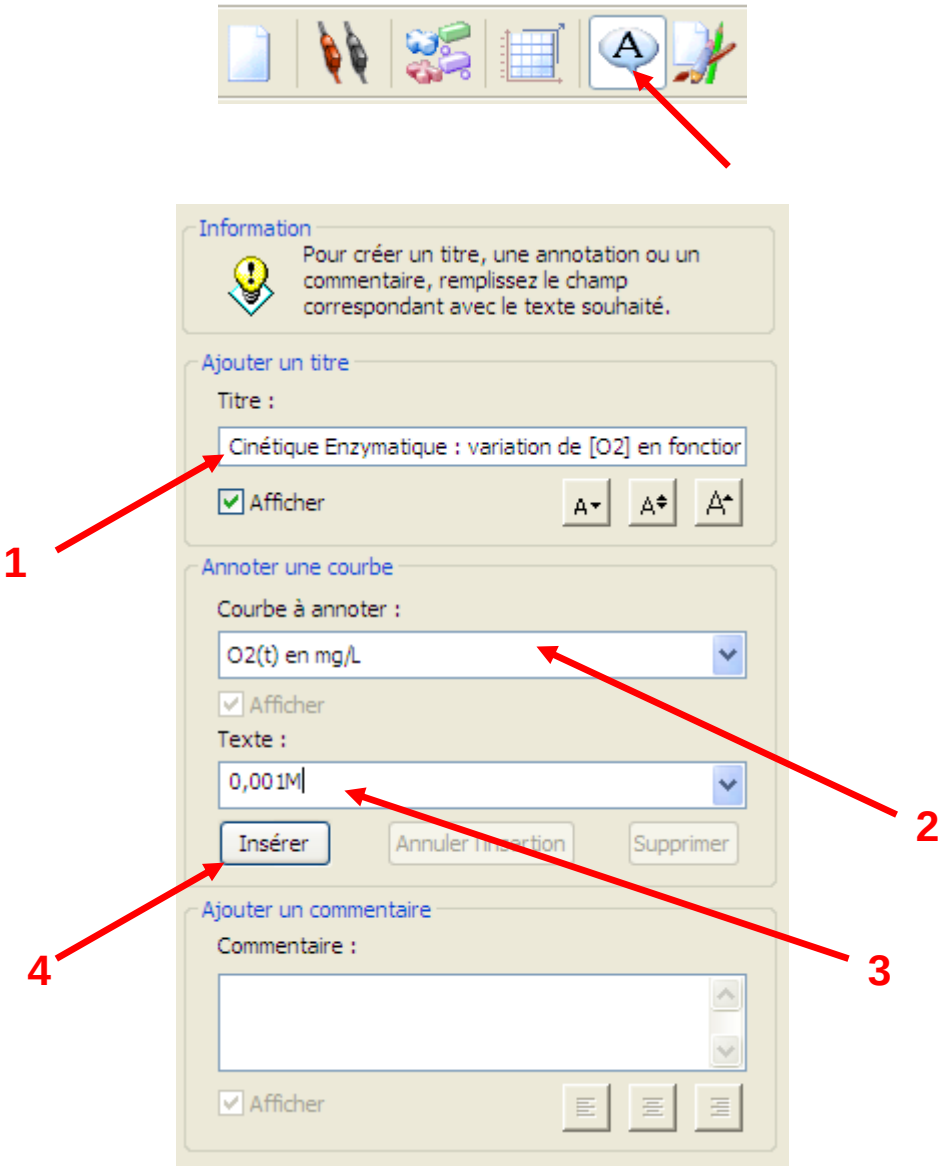
- Utiliser le même protocole que précédemment pour les différentes concentrations de glucose à tester. Manipuler dans le sens croissant des concentrations. Pour chaque expérience, choisir la superposition de la courbe aux précédentes :



3.2 Résultats obtenus



On prendra soin d'annoter les différentes courbes en cliquant sur l'icône « Annotation d'une courbe »



4 Exploitation des résultats

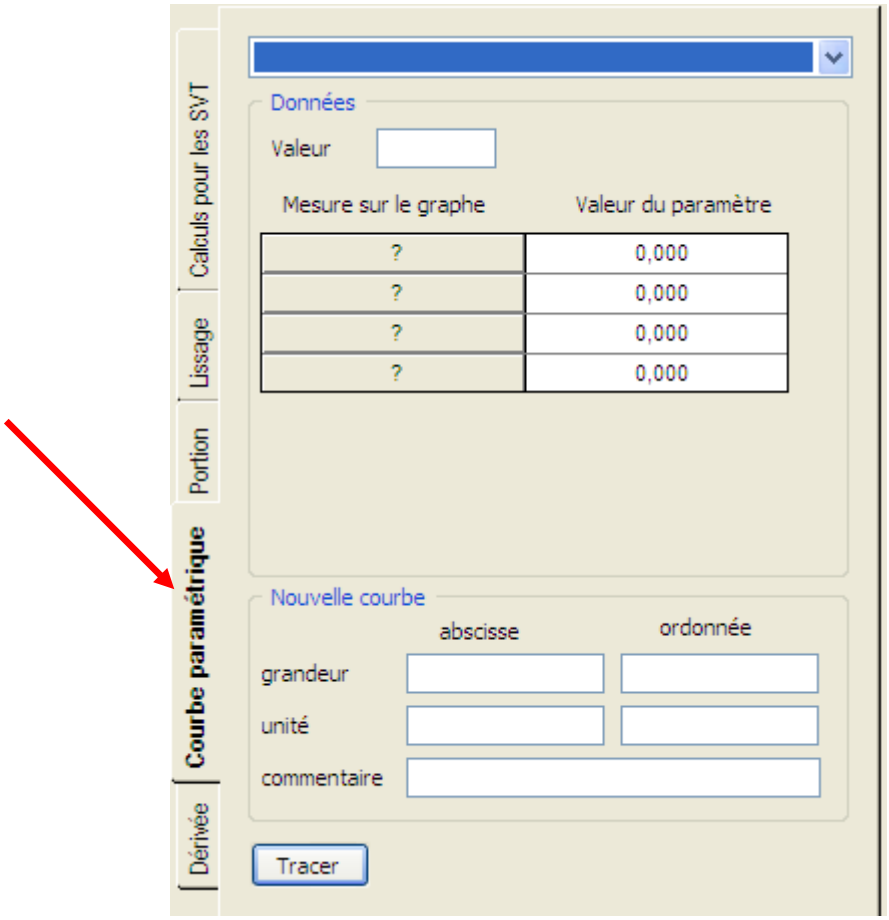
4.1 Construction de la courbe : vi = f([substrat])

Cette courbe peut être obtenue en utilisant aussi bien les courbes de décroissance de la concentration en substrat ou les courbes d'apparition du produit.
Nous allons pouvoir construire la courbe vi=f([Substrat]) avec :

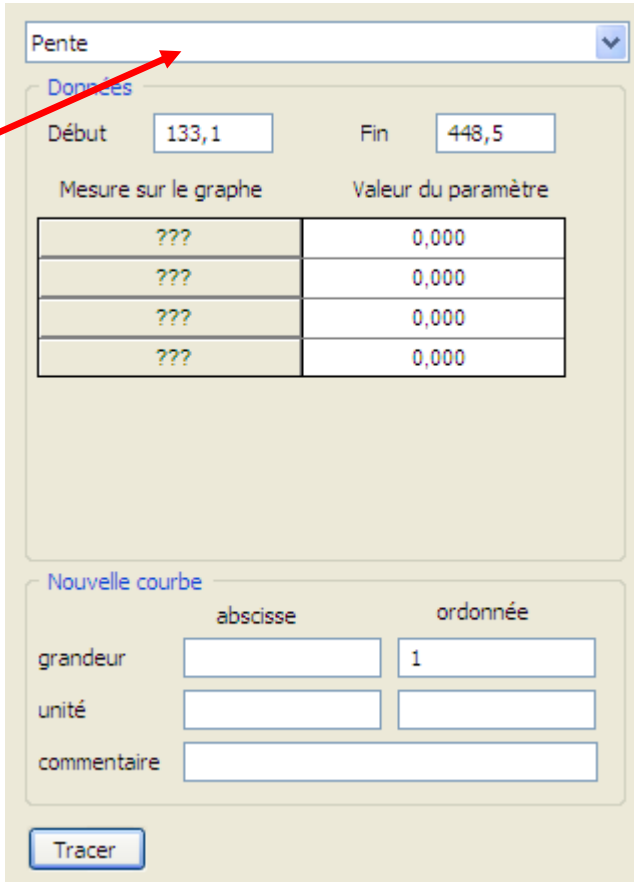
- Vi (vitesse initiale) =d[P]/dt qui correspond à la pente de la droite dans les premiers temps de la réaction une fois l'injection de la GOD
- [substrat] qui correspond à la concentration en substrat

- Cliquer sur l'icône « traitement des données »

- Sélectionner l'onglet « courbe paramétrique »

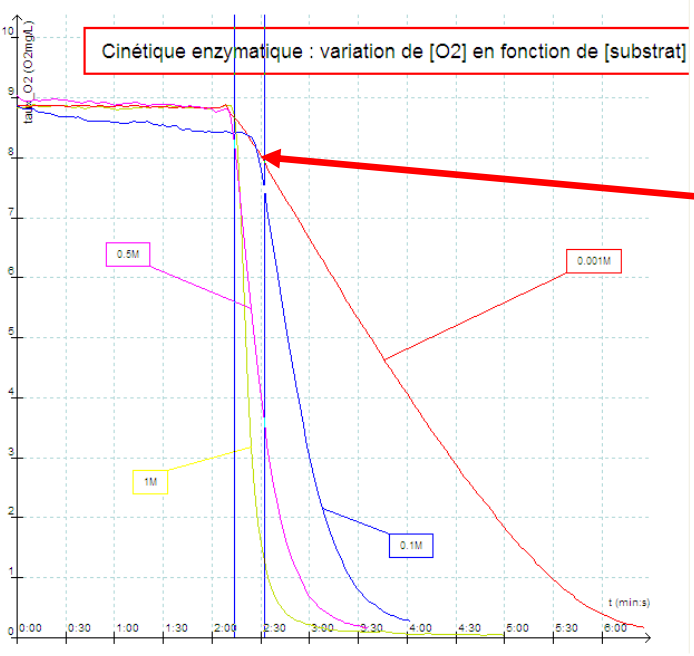


- Sélectionner à l'aide de l'ascenseur « pente » comme mode de détermination pour pouvoir mesurer directement les pentes (vitesses initiales) des différentes courbes acquises.

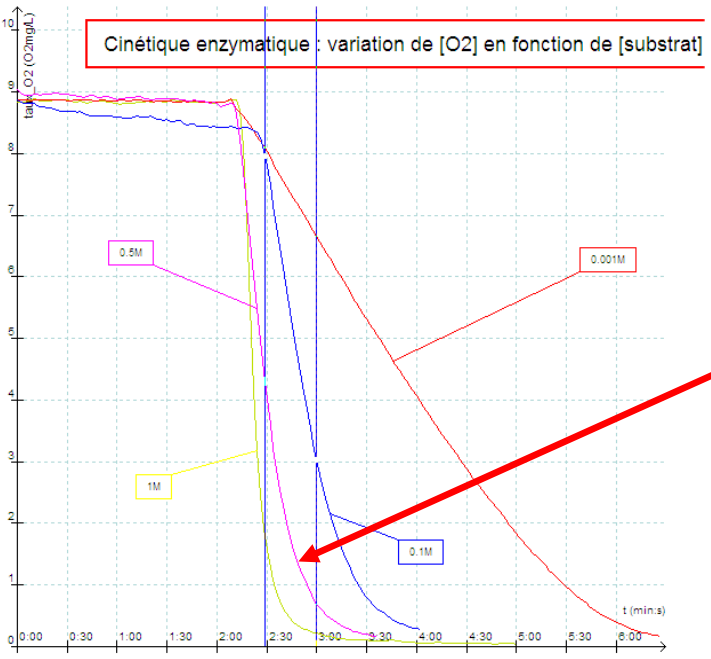


- Le choix des valeurs des cases « Début » et « Fin » se fait directement sur le graphique à l'aide de l'outil intervalle : il suffit d'aller sur le graphique pour voir apparaître une ligne verticale bleue correspondant au début de l'intervalle sélectionné. Une fois le début validé en faisant un clic gauche sur la souris, vous pouvez sélectionner la fin de l'intervalle en faisant de nouveau un clic gauche.

N.B. : le calcul de la pente se faisant simultanément pour l'ensemble des courbes, il est indispensable que l'intervalle sélectionné corresponde à des décroissances strictes des différentes courbes.



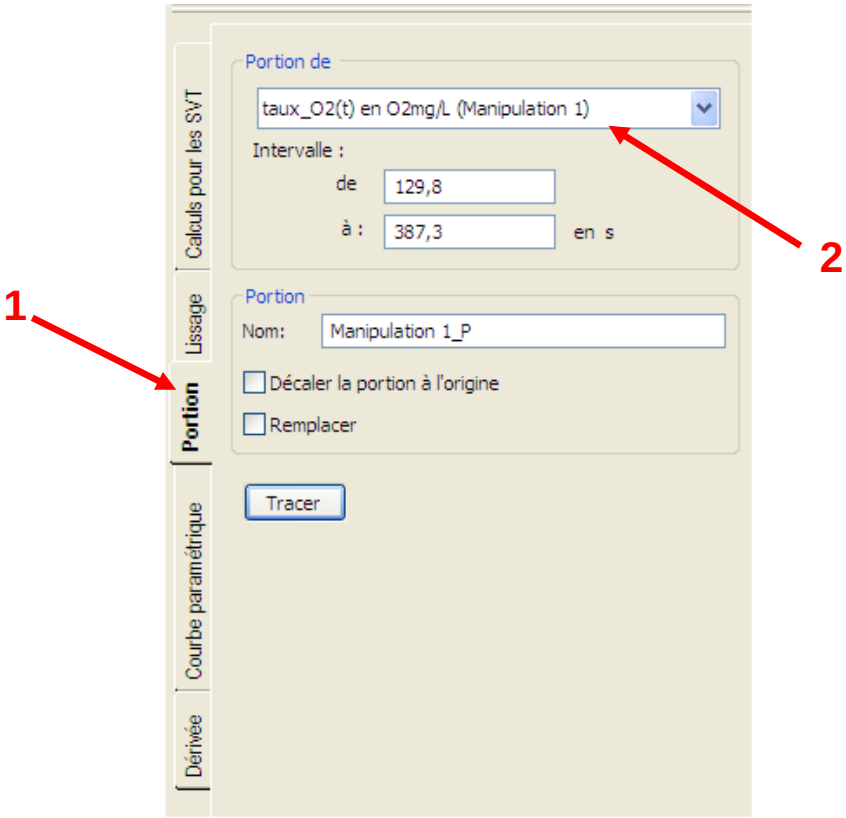
L'intervalle sélectionné n'est pas adapté car la courbe bleue (0,1M) n'est pas strictement décroissante sur cet intervalle



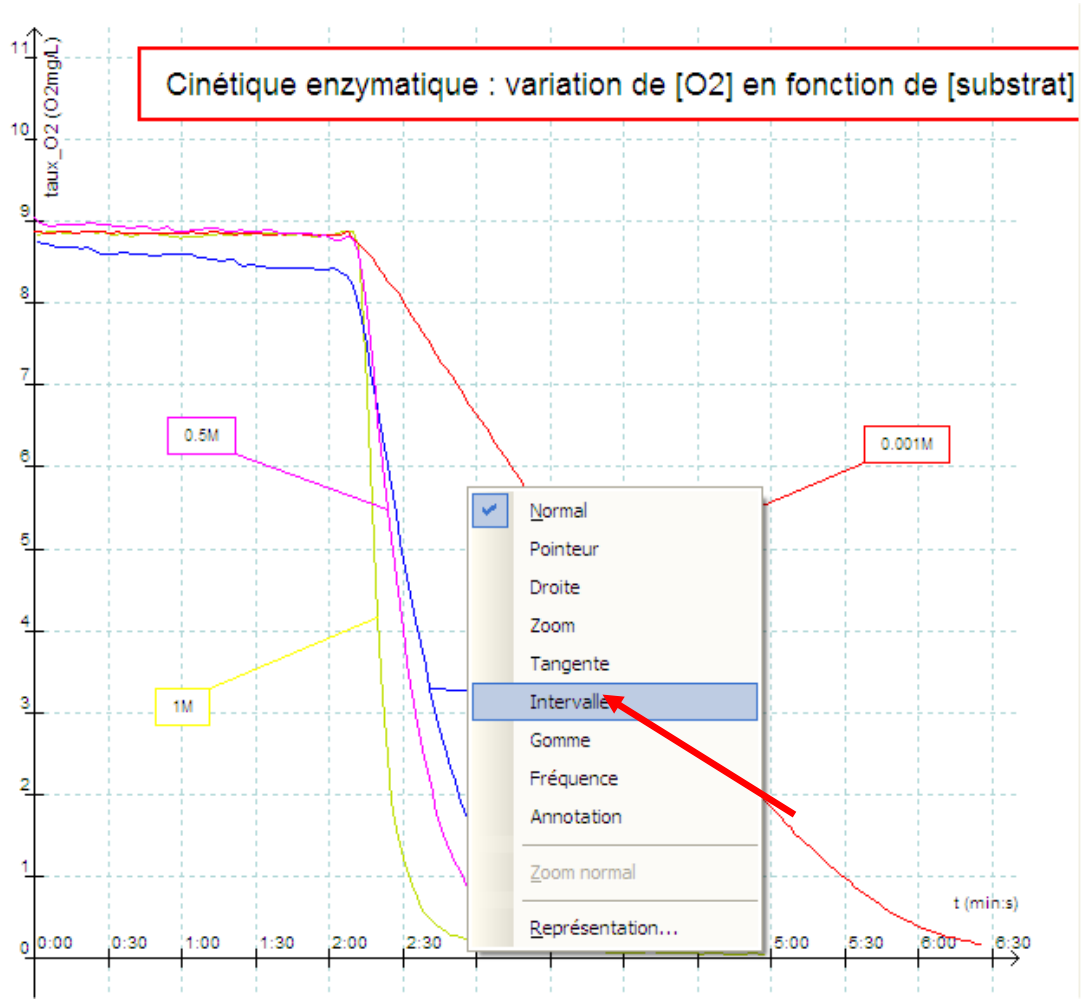
L'intervalle sélectionné n'est pas adapté car les courbes rose (0,5M) et jaune (1M) ne sont pas strictement décroissantes sur cet intervalle

Pour faciliter le traitement, on va donc au préalable faire correspondre le temps correspondant à l'injection du glucose au temps t=0, et cela pour chaque courbe :

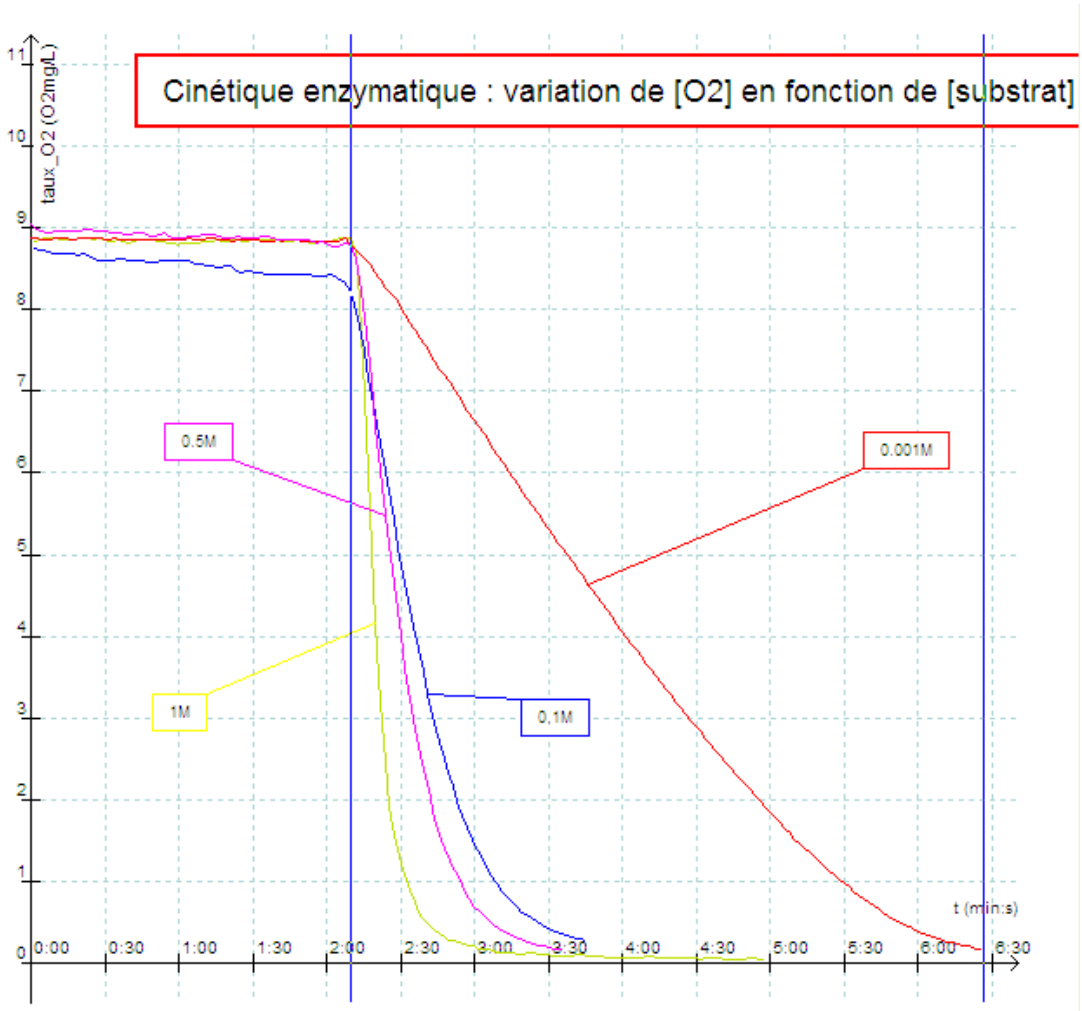
- Sélectionner l'onglet « Portion » puis le nom de la première courbe (0,001M)



- Le choix de l'intervalle se fait directement sur le graphique :
  + sélectionner l'outil intervalle en faisant un clic droit sur la courbe



+ positionner la première droite verticale au niveau de l'injection puis faire un clic gauche. Positionner la seconde droite verticale à la fin de la courbe :

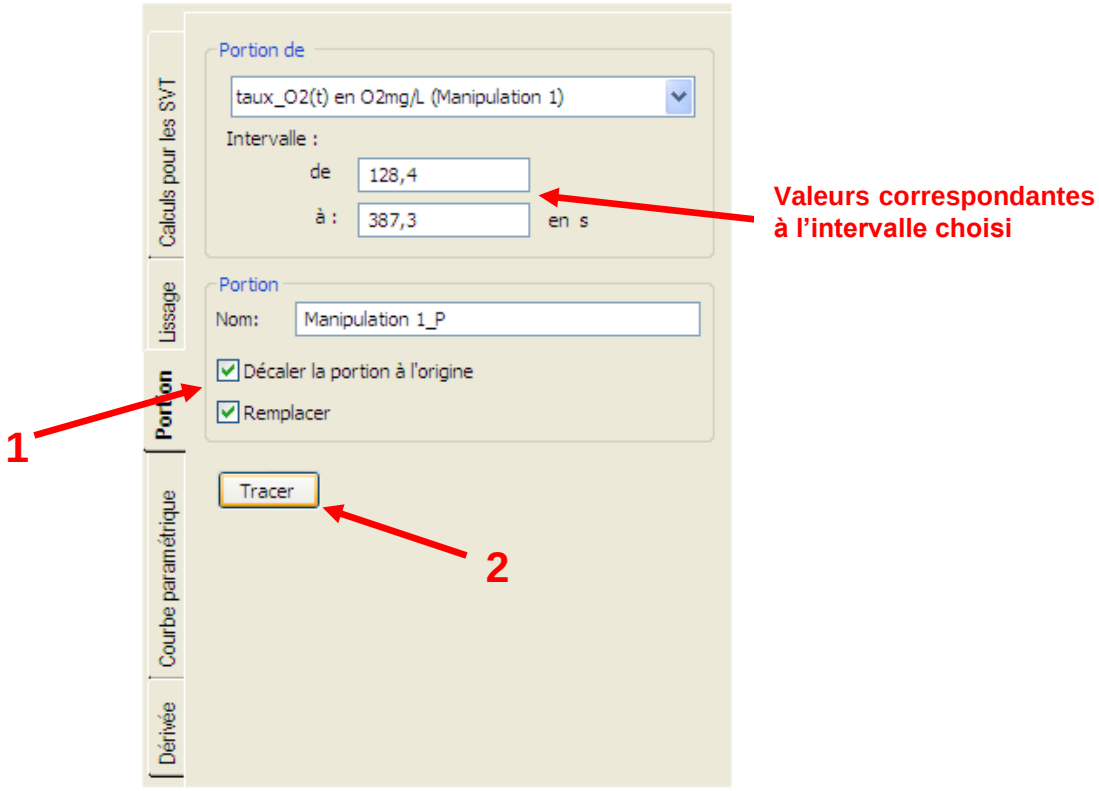


Injection de la GOD

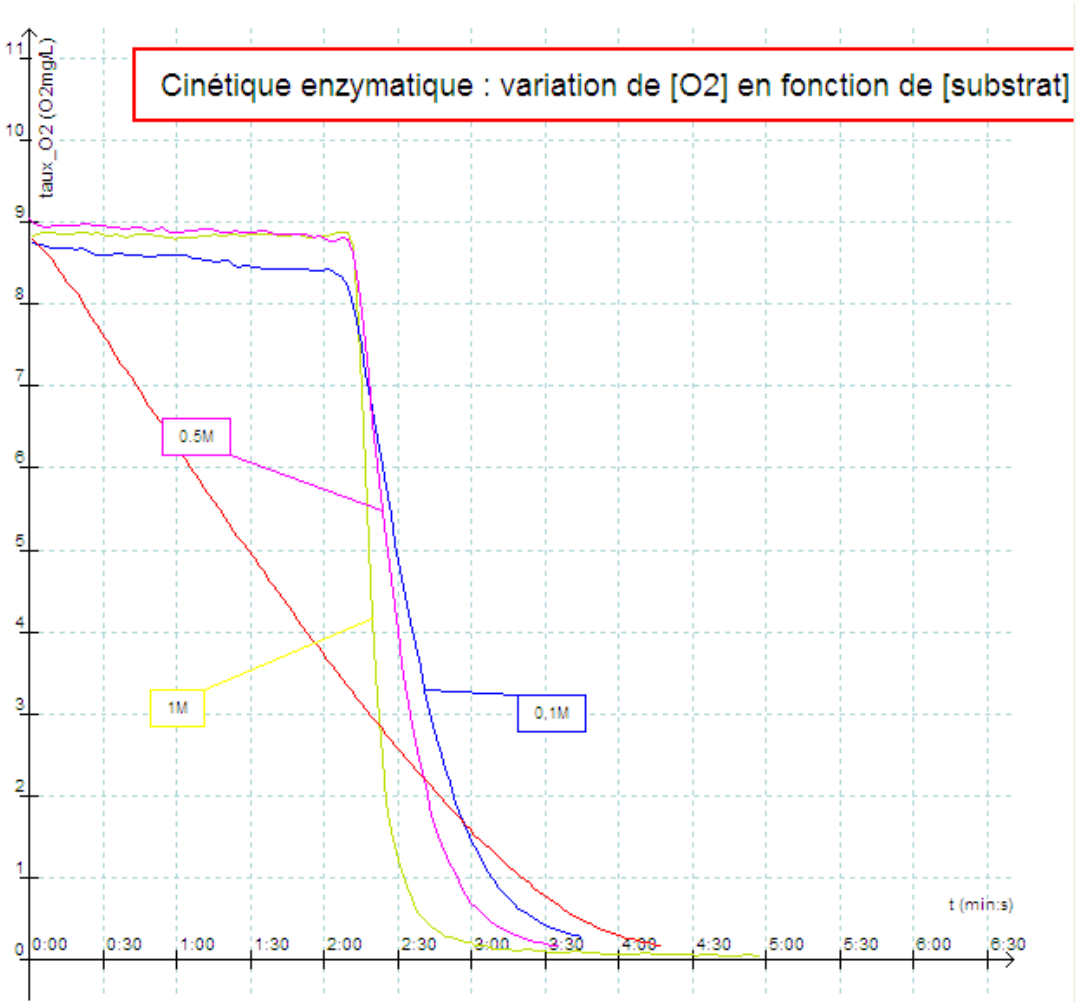
Fin de la courbe

Les valeurs correspondantes à cet intervalle apparaissent automatiquement dans les cases « Intervalle »

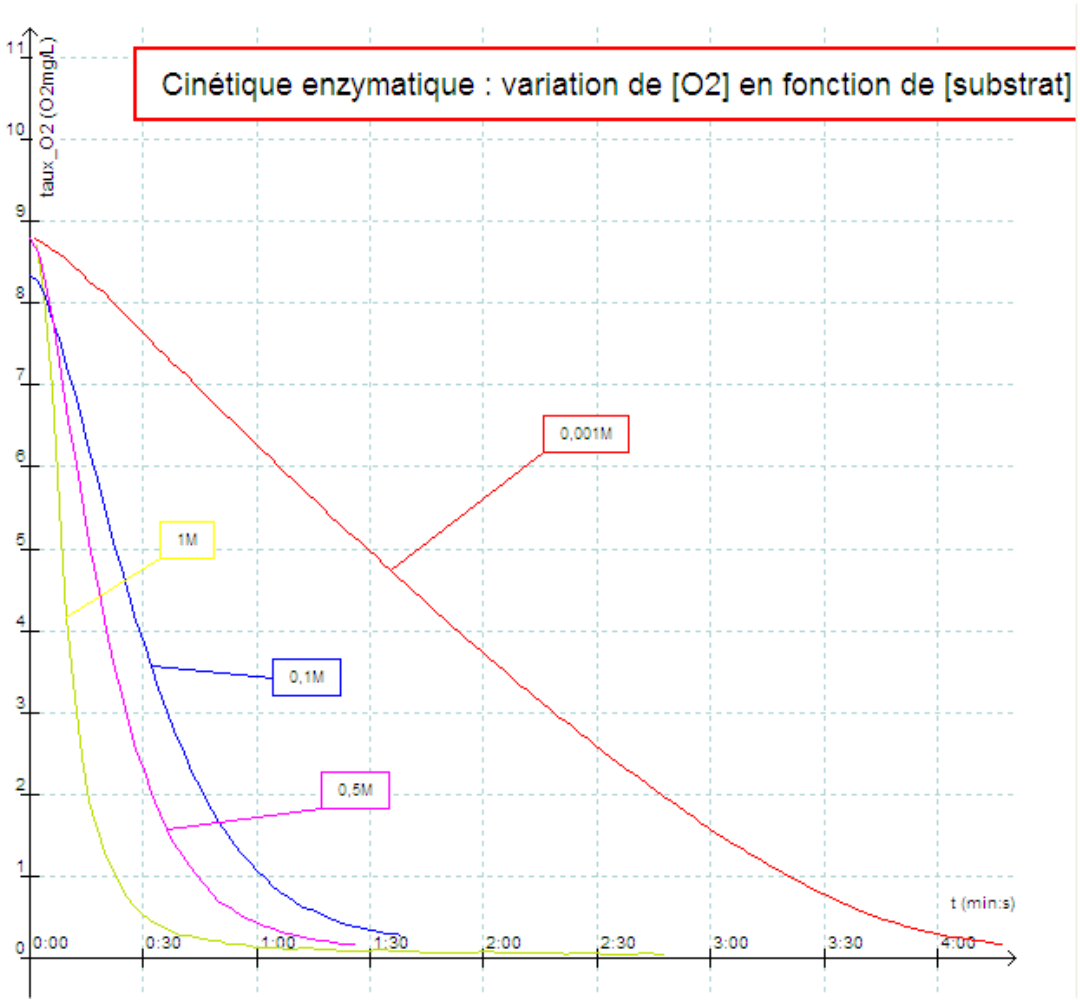
- Cocher les cases « Décaler la portion à l'origine » et « remplacer », puis « Tracer »



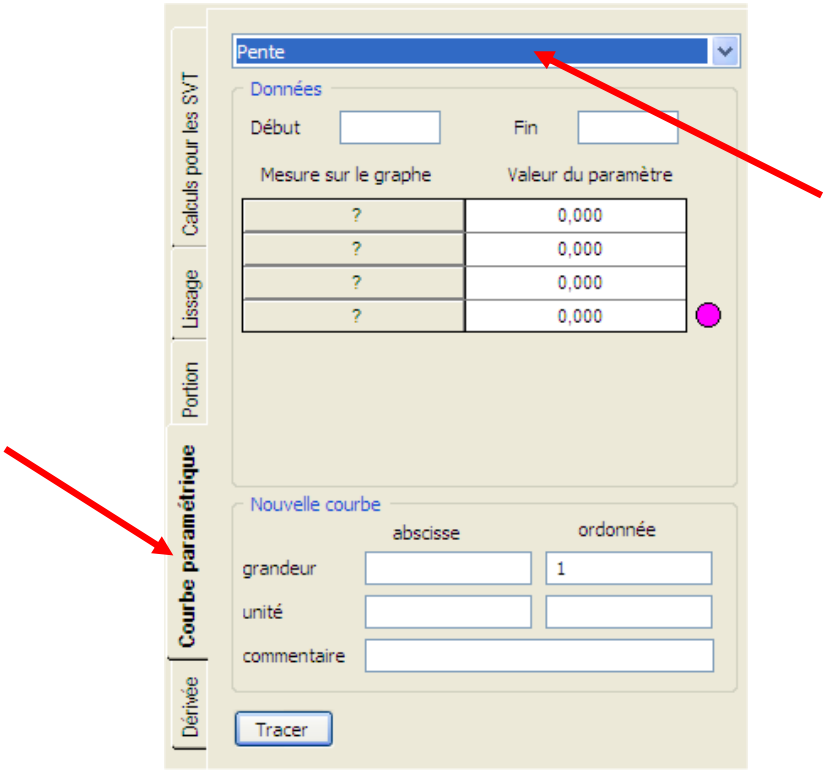
On obtient alors sur le graphique un décalage à l'origine de la courbe rouge :



- On procède de la même façon avec les autres courbes pour obtenir le graphe suivant :

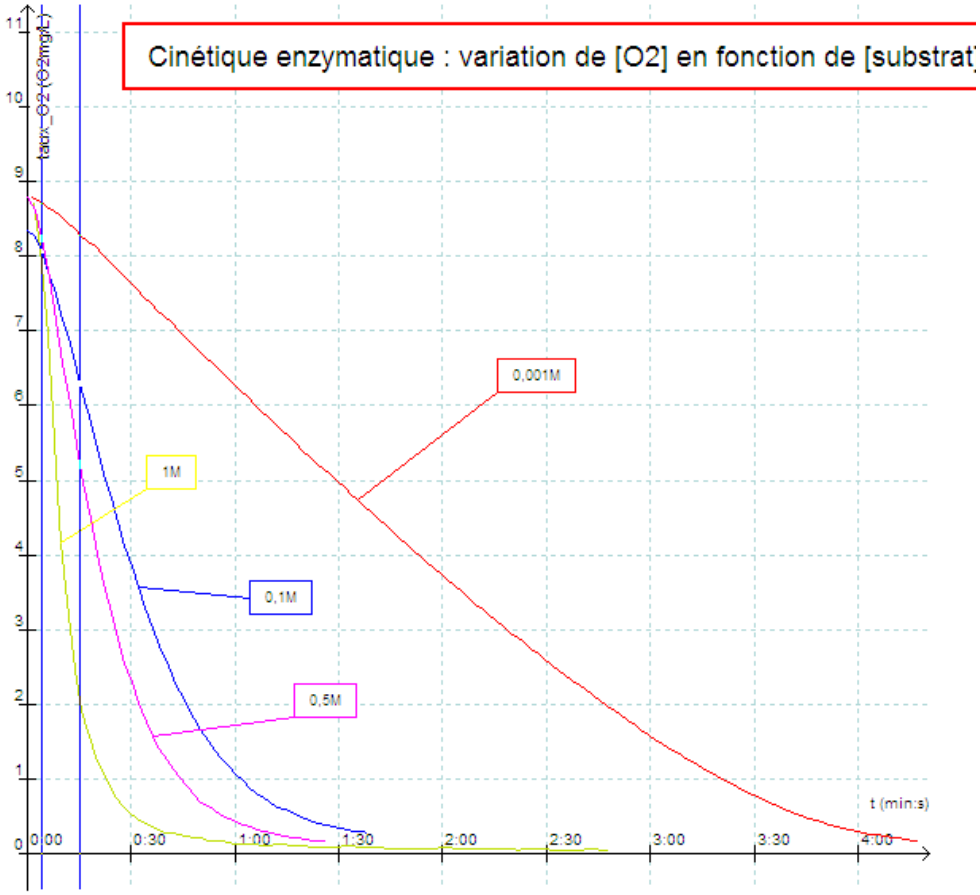


- Retourner sur l'onglet « courbe paramétrique » et sélectionner « Pente »

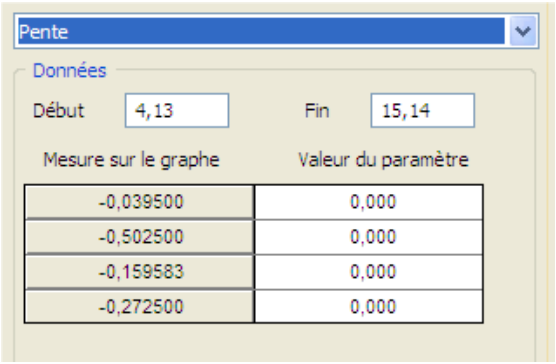


- Comme précisé précédemment, le choix des valeurs des cases « Début » et « Fin » se fait directement sur le graphique à l'aide de l'outil intervalle : il suffit d'aller sur le graphique pour voir apparaître une ligne verticale bleue correspondant au début de l'intervalle sélectionné. Une fois le début validé en faisant un clic gauche sur la souris, vous pouvez sélectionner la fin de l'intervalle en faisant de nouveau un clic gauche.

- On sélectionne un intervalle qui convient à l'ensemble des courbes :

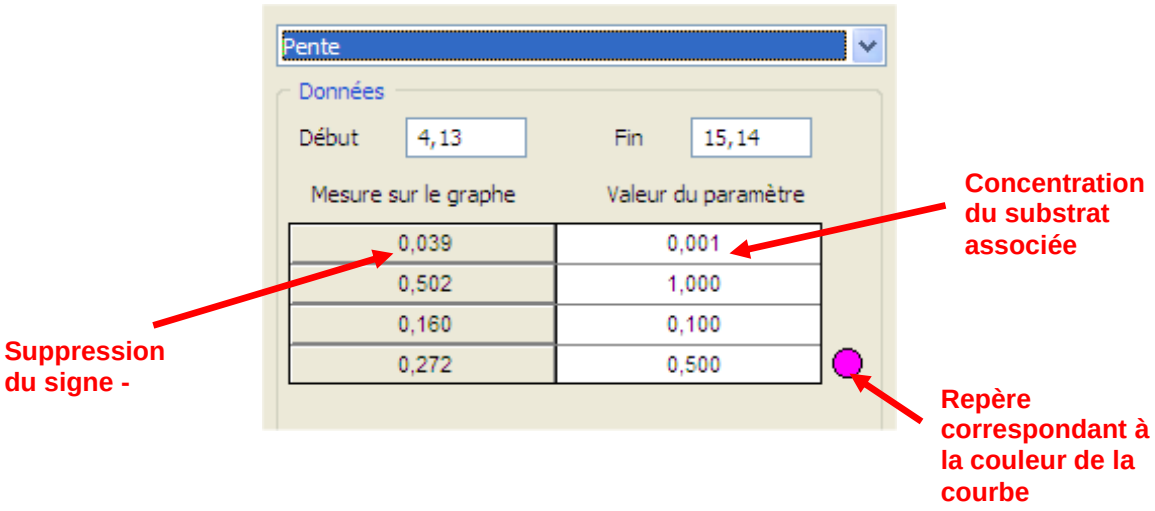


Les valeurs correspondantes aux différentes pentes apparaissent automatiquement dans le tableau :



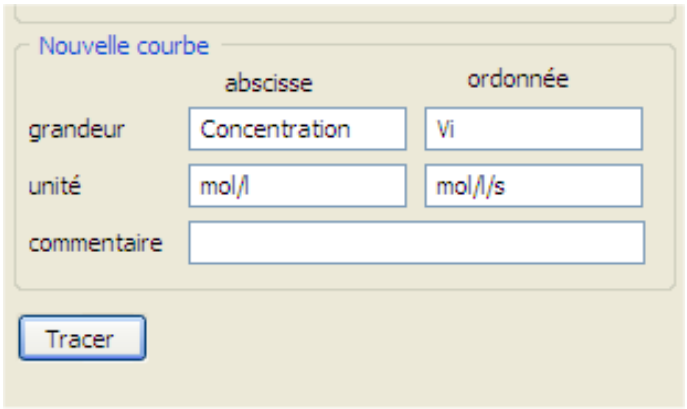
Pour chaque valeur dans le tableau, on peut retirer le signe – de la colonne « Mesure sur le graphe » si on souhaite obtenir des vitesses positives.

- Dans la colonne « Valeur du paramètre », il faut taper au clavier la valeur de la concentration en substrat correspondante. Notez le point de couleur qui apparaît à côté de la case sélectionnée permettant de retrouver sur le graphe la courbe associée.

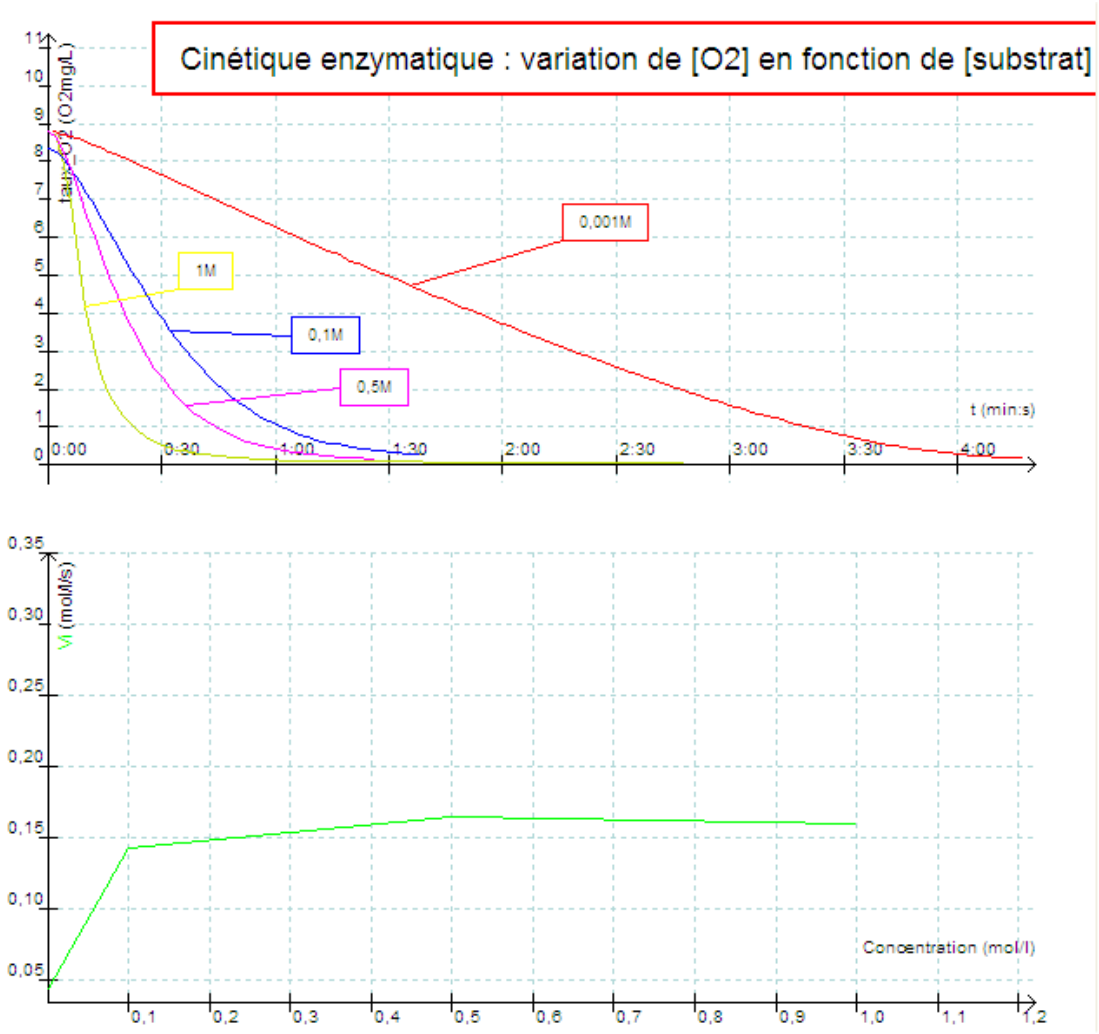


- Dans la partie « Nouvelle courbe », entrez les paramètres qui seront représentés en abscisse et en ordonnée ainsi que leurs unités.

- Cliquer sur « Tracer »



4.2 Résultat obtenu



La vitesse initiale (Vi) de la réaction enzymatique est d'autant plus élevée que la concentration en substrat est forte. Peu à peu, Vi tend vers une vitesse maximale pour une concentration en substrat optimale.

La courbe Vi = f([Substrat]) montre l'existence d'une relation de proportionnalité entre la vitesse de la réaction bio-catalysée et les faibles concentrations en substrat.

ETUDE DU REFLEXE MYOTATIQUE

Niveau : lycée, 1ere S
Physiologie
Fiche professeur

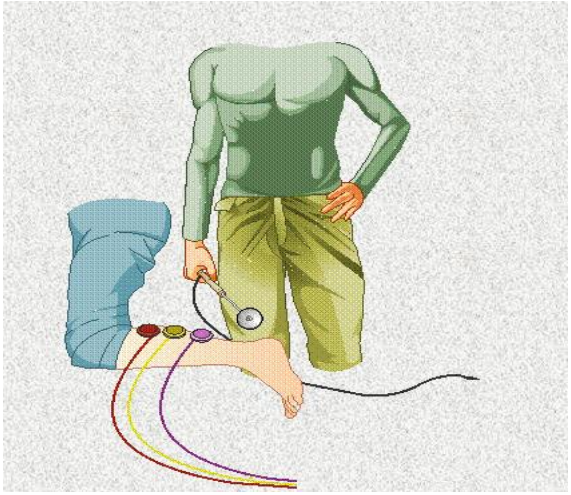
1 Protocole expérimental

- Brancher le capteur Electrophy sur l'interface PRIMO (basculer si nécessaire l'interrupteur sur la position electrophy)

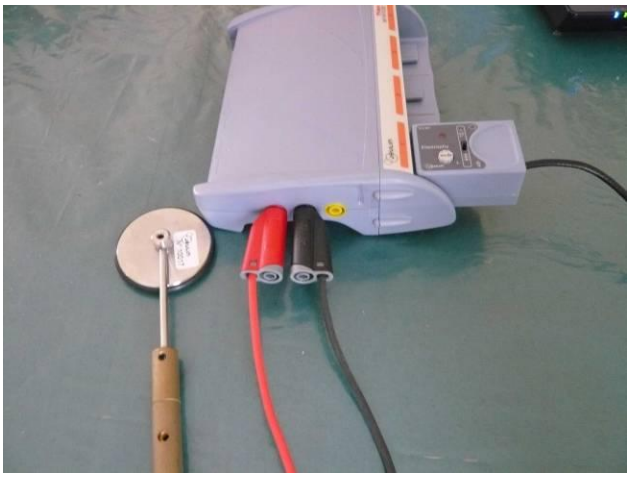
- Connecter le cordon ECG-EMG sur le capteur Electrophy
- Coller 3 électrodes adhésives et relier le cordon ECG-EMG comme indiqué sur le schéma ci-dessous

Remarque : Les électrodes adhésives ont une durée de vie qui est indiquée sur le paquet ou une date de fabrication : dans le cas de la date de fabrication les électrodes sont valables 2 ans. S'agissant de matériel médical, des électrodes ayant passé cette date de quelques mois restent valables. Il faut néanmoins veiller à ne pas utiliser d'électrodes trop anciennes. Dans tous les cas, on veillera à bien vérifier la présence de gel sur ces électrodes avant de les coller sur la peau.

Remarque 2 : je conseille de mettre la masse sur la malléole (câble avec partie violette) Ce qui évite les inversions avec les autres câbles (rouge et jaune).



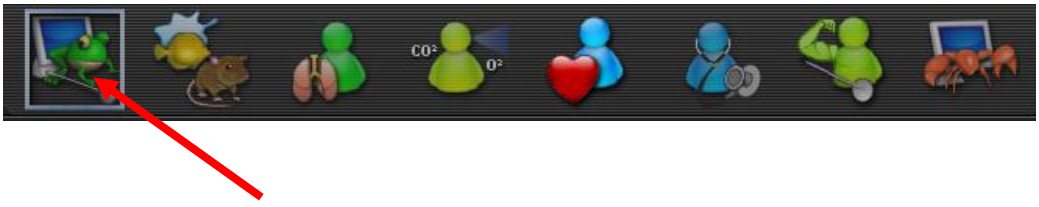
- Brancher le martoreflex sur le côté de l'interface PRIMO



- Lancer l'Atelier Scientifique pour les SVT.

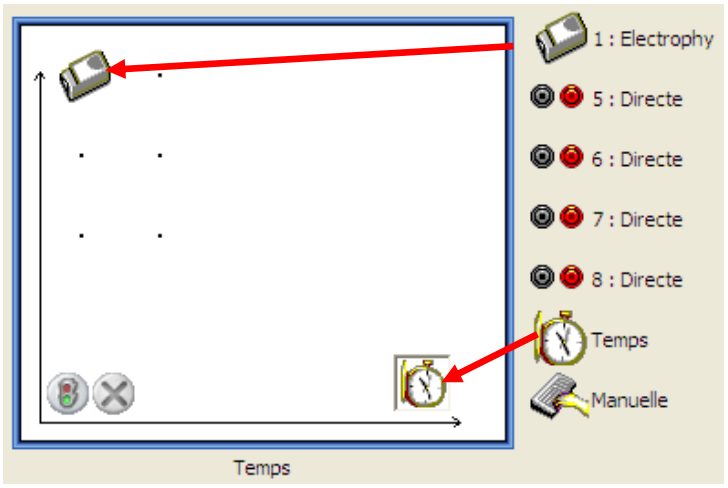
Atelier Scientifique pour les SVT
Généraliste pour les SVT
Ce mode généraliste permet :
de paramétrer librement l'acquisition avec une interface Ex.A.O.
de réaliser des acquisitions et traitements vidéo
d'utiliser un tableur scientifique.
de disposer de l'ensemble des outils de traitement de l'atelier scientifique SVT
de réaliser un compte-rendu.
Primo
ok
JEULIN

- Vérifier que l'interface sélectionnée (en bas à gauche) est bien la console PRIMO (ou choix automatique)
- Double-cliquer sur l'icône correspondante au module « Généraliste pour les SVT »



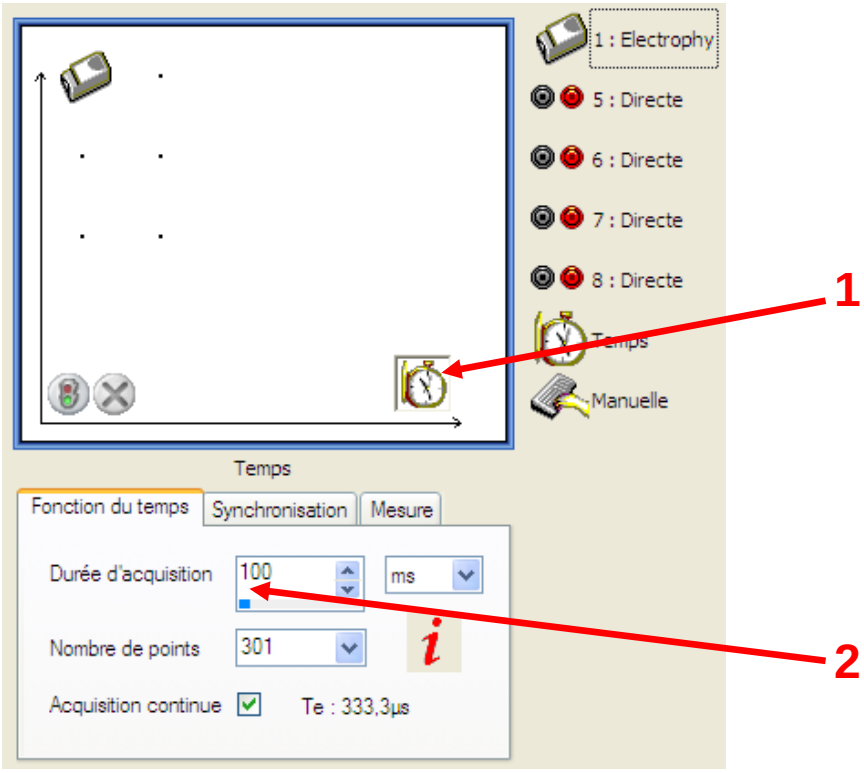
2 Paramétrage de l'acquisition

- Positionner le capteur Electrophy sur l'axe des ordonnées et le temps sur l'axe des abscisses.

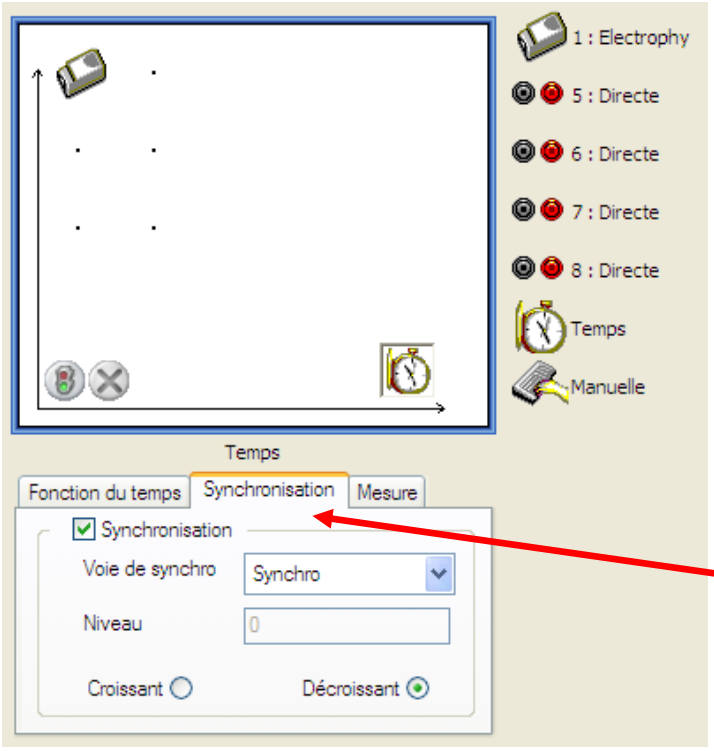


- Pour régler le capteur Electrophy, positionner le bouton ◣ en milieu de course. Si le signal mesuré apparaît trop petit une fois l'acquisition effectuée, on augmentera le gain en jouant sur ce bouton. Si par contre le signal mesuré est saturé, on diminuera le gain.

- Paramétrer la durée d'acquisition sur 100 ms en cliquant sur l'icône « Temps » sur l'axe des abscisses

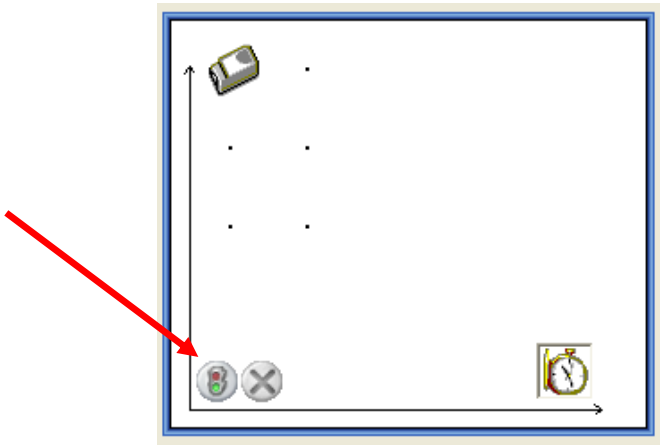


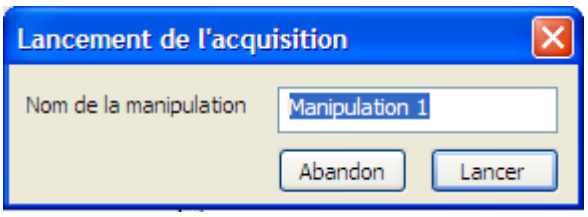
- Cliquer sur l'onglet synchronisation, et paramétrer comme ci-dessous :



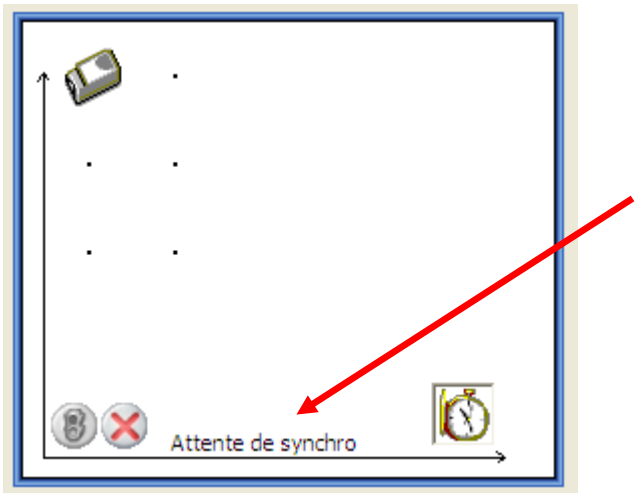
Le réglage de la synchronisation va permettre de démarrer l'acquisition automatiquement dès qu'on aura tapé avec le martoreflex.

- Lancer la mesure en cliquant sur le feu vert puis en cliquant sur le bouton « Lancer »

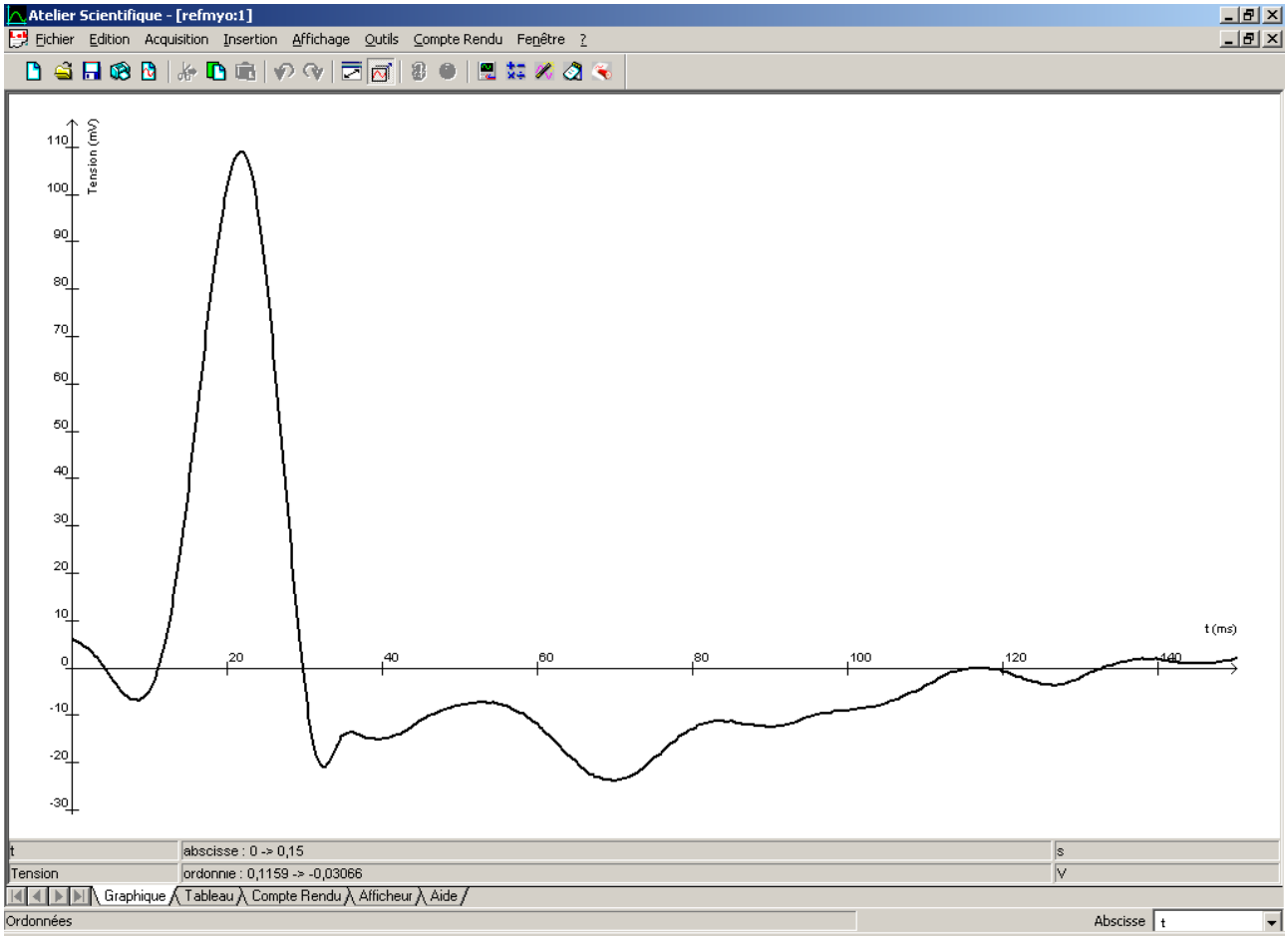




Le logiciel se met alors « en attente de synchro » et l'acquisition démarra dès qu'on tapera avec le martoreflex sur le talon d'Achille (dans le cas du réflexe achilléen).



3 Résultat obtenu



4 Problèmes possibles / TRUCS ET ASTUCES

- Les électrodes se décollent : dégraisser la peau à l'alcool avant de coller les électrodes ou utiliser des électrodes permanentes.
- Vérifier la date limite d'utilisation des électrodes adhésives
- Si le tracé apparaît trop tassé, augmenter le gain à l'aide du potentiomètre de l'adaptateur Electrophy.
- La ligne de base du tracé n'est pas horizontale : le tracé est perturbé par l'activité d'autres muscles.
- Si vous possédez une ancienne version du capteur électrophy avec pile, il est primordial que la pile soit suffisamment neuve ou chargée à 80% minimum. (tension sup à 8,4 V)

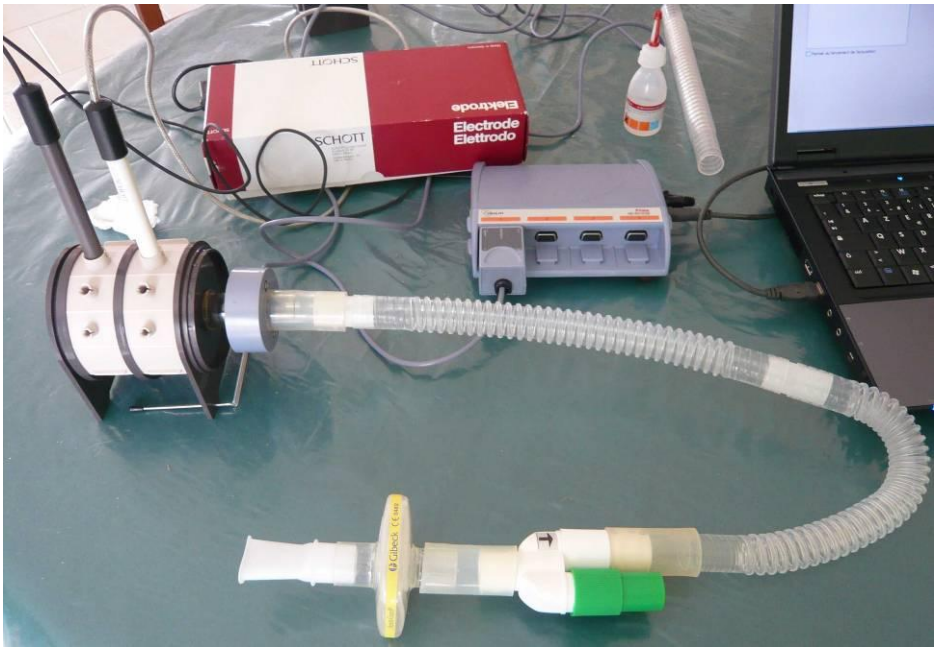
IMPORTANT : veiller à ce que les élèves ne soient pas en déséquilibre sur des tabourets trop hauts, la mesure serait faussée car les muscles ne seraient pas décontractés.

ETUDE DU METABOLISME HUMAIN

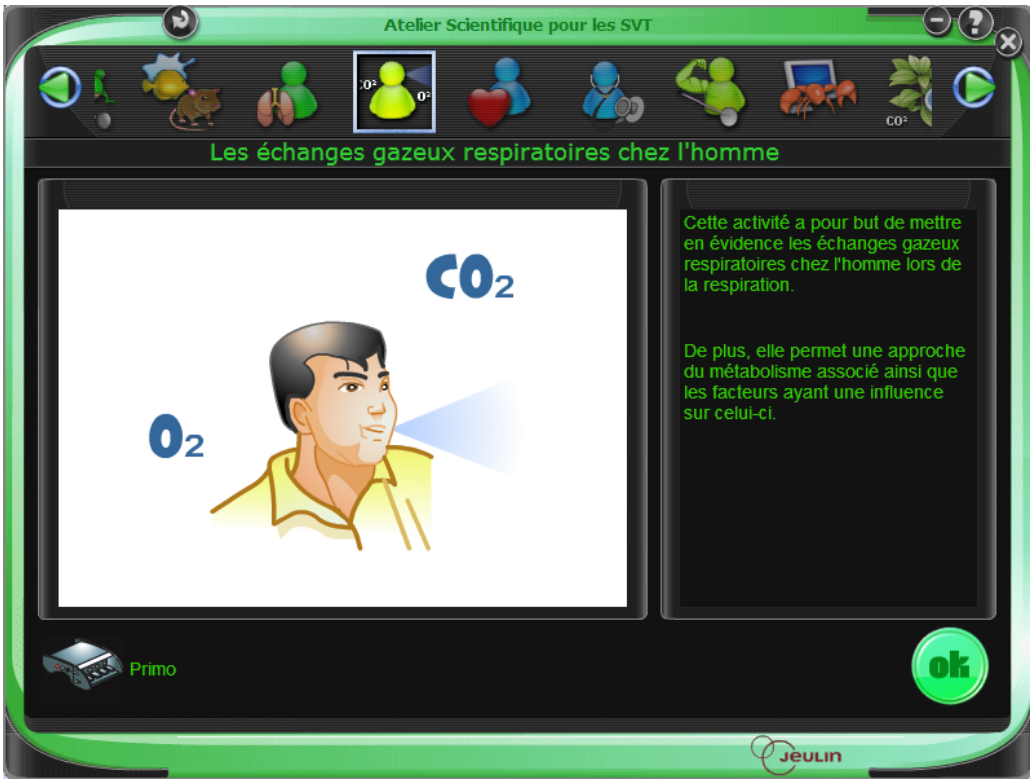
Niveau : lycée
Fiche professeur

1 Protocole expérimental

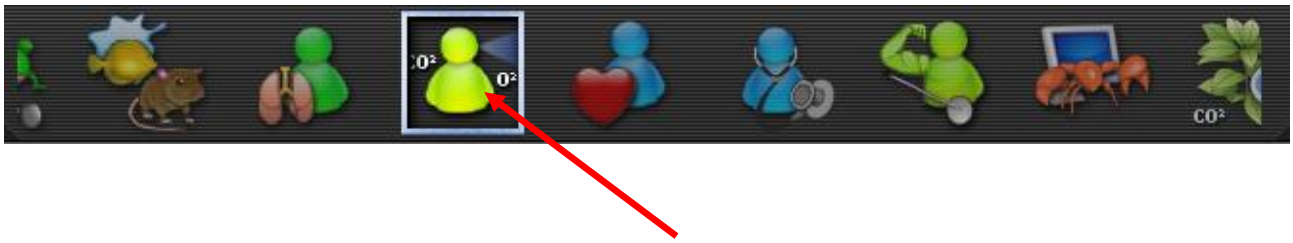
- Brancher le capteur Ventilation sur l'interface PRIMO
- Faire le montage ci-dessous



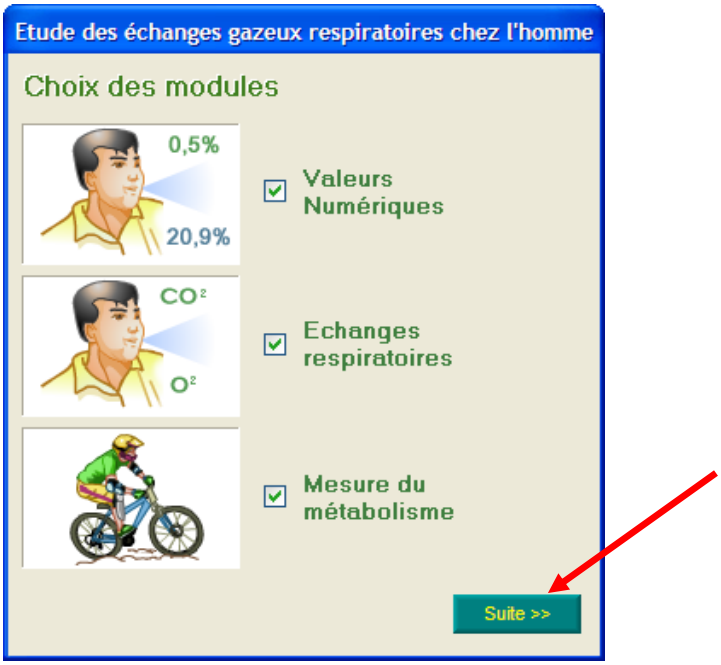
- Lancer l'Atelier Scientifique pour les SVT.


Atelier Scientifique pour les SVT
Les échanges gazeux respiratoires chez l'homme
CO2
O2
Cette activité a pour but de mettre en évidence les échanges gazeux respiratoires chez l'homme lors de la respiration.
De plus, elle permet une approche du métabolisme associé ainsi que les facteurs ayant une influence sur celui-ci.
Primo
ok
JEULIN

- Double-cliquer sur l'icône correspondante au module « Les échanges gazeux respiratoires chez l'homme »



- Cliquer sur « suite »



On peut soit travailler avec une sonde O_2, soit avec une sonde CO_2 ou les deux en même temps.

Dans le cas présent, on ne va utiliser qu'une sonde O_2

- Etalonnage de la sonde O2 :

  - Mettre la sonde dans l'air
  - Cliquer sur le bouton réglage puis sur le bouton « suite »

  - Positionner le bouton zéro (repéré par le symbole ◣◢) du capteur oxymètre en milieu de course
  - Régler le bouton pente (repéré par le symbole ◣) de façon à obtenir 20,7 ou 20.8 % à l'écran

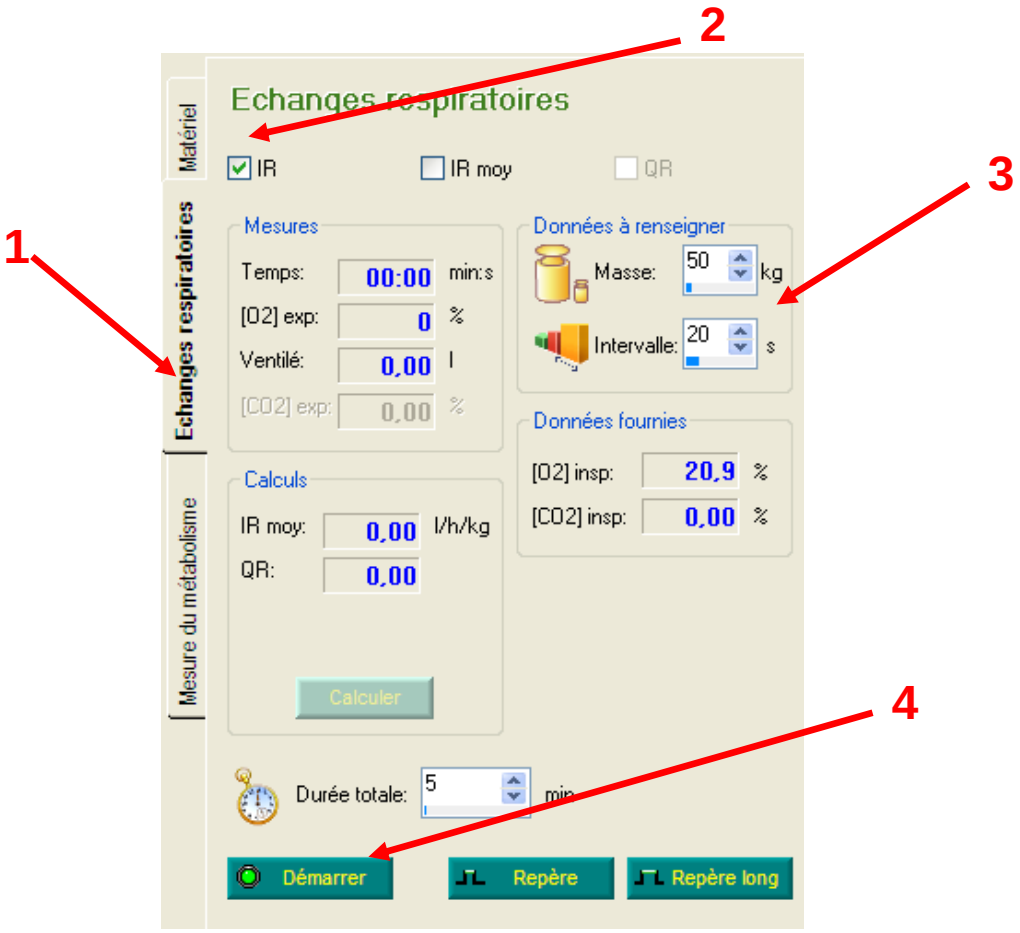
  - Cliquer sur le bouton « Fermer »

- Lancement de l'acquisition :

  - Cliquer sur l'onglet « Echanges respiratoires »

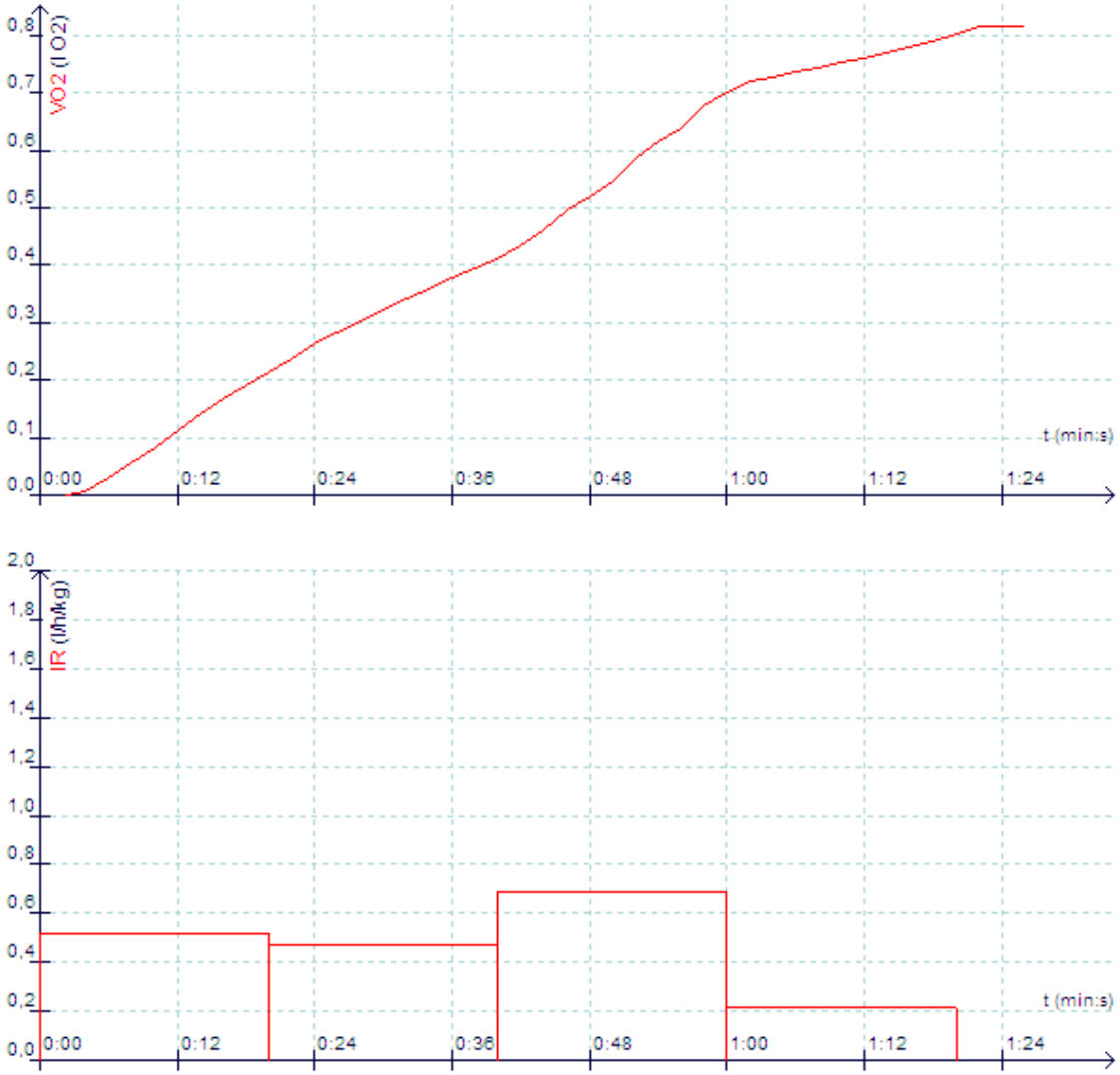
  - Cocher la case IR si vous souhaitez faire apparaître l'Intensité Respiratoire sans oublier de renseigner les cases « Masse » et « Intervalle ».

  - Cliquer sur le bouton démarrer



  - Suivre les instructions à l'écran

2 Exemple de résultat



REMARQUES :

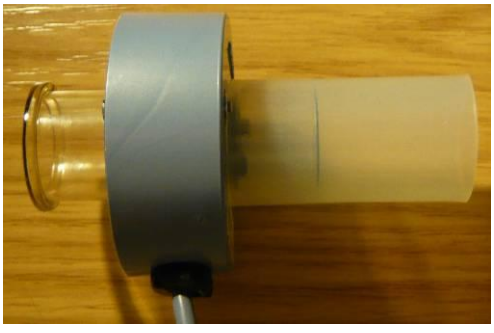
- Il est important de vérifier que le taux d'O2 soit de 20,7 ou 20,8 % dans l'enceinte avant de démarrer la mesure (voir étalonnage de la sonde).

(Le logiciel fait la soustraction 20,9% – taux mesurer dans l'enceinte ; il est donc important de ne pas régler à 20,9% car la mesure n'est pas forcément stable et peut basculer à 21% ce qui entrainera un graphique inversé négatif. D'où l'intérêt de régler à 20,7 ou 20,8% pour pallier à ce problème éventuel)

- Il est indispensable de bien aérer l'enceinte de respiration humaine entre 2 expériences pour être de nouveau à 20,7 ou 20.8 %

- Bien vérifier le branchement du clapet anti-retour (voir photo du montage)

- Bien fixer la turbine dans le capteur respiro à l'aide du manchon en plastique fourni (voir photo du montage)

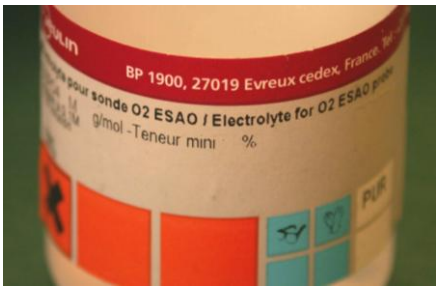


ANNEXE 1 : SONDE O2 – Mode d'emploi

Pour démarrer rapidement

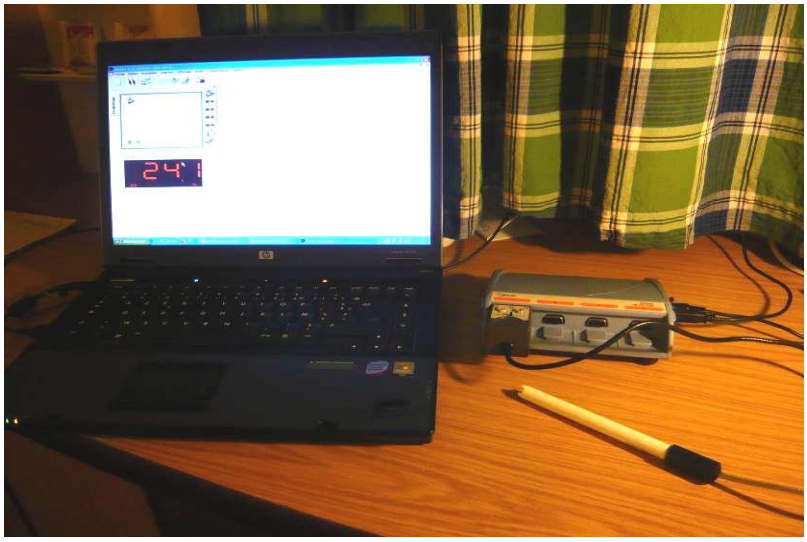
1. Mettre en place l'ensemble du matériel : sonde 02 + Adaptateur Oxymètre + Interface ExAO et lancer votre logiciel d'acquisition

2. Remplir la tête de sonde avec « l'électrolyte pour sonde O2 » de telle sorte que l'électrolyte déborde lorsque la tête de sonde est vissée sur le corps de la sonde. Cette manipulation aura 2 effets :

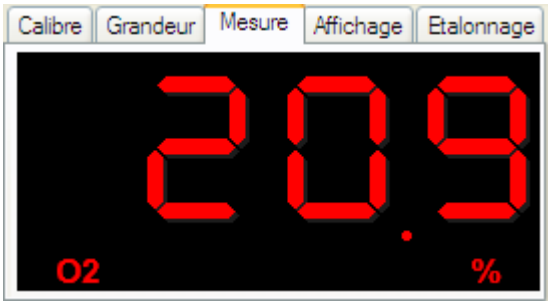


- ***Etre sure qu'il n'y a pas de bulle d'aire***
- ***Vérifier l'étanchéité de la membrane et l'absence de fuite.***

3. Visser la tête de sonde, rincer à l'eau distillée et laisser le système se stabiliser pendant quelques minutes dans l'air (la valeur affichée doit alors être constante)

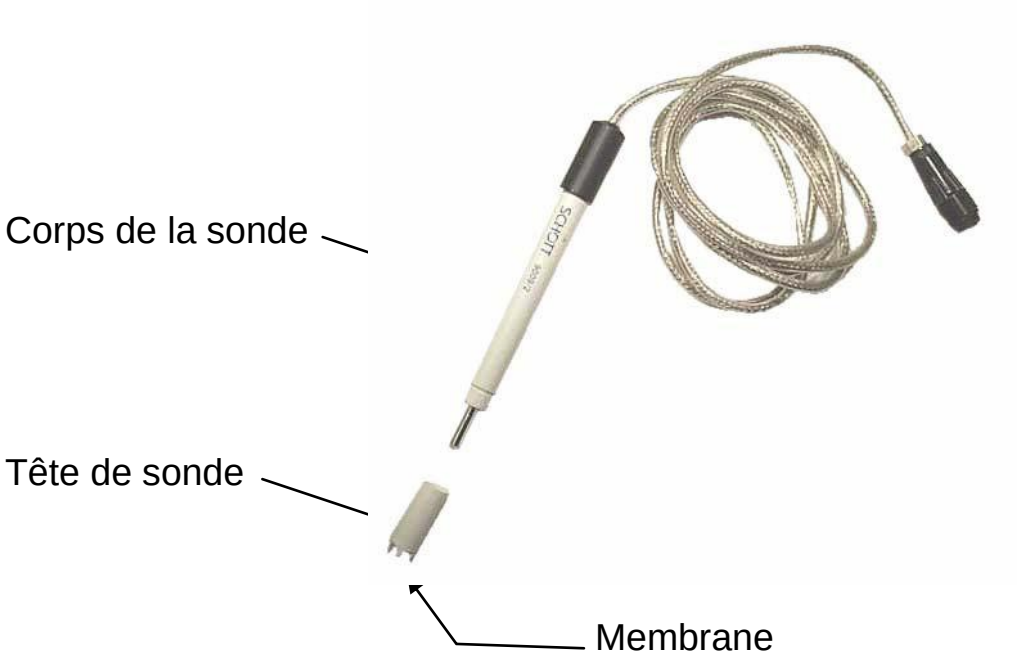


4. Positionner le bouton zéro (situé à gauche) de l'oxymètre en milieu de course et régler le bouton pente (situé à droite) pour obtenir 20,9% dans l'air

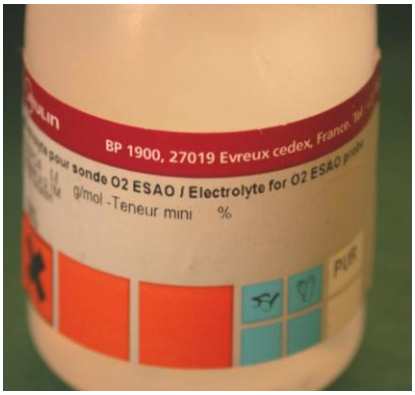


VOTRE SONDE O2 EST PRETE A L'EMPLOI

1. Mise en service de la sonde 02



Remplir la tête de sonde avec « l'électrolyte pour sonde O2 » de telle sorte que l'électrolyte déborde lorsque la tête de sonde est vissée sur le corps de la sonde, ce qui évitera la présence de bulles d'air et permettra de vérifier l'étanchéité de la membrane.



Remarque :

La présence d'une grosse bulle peut être détectée en observant la valeur renvoyée par la sonde positionnée successivement tête en haut puis tête en bas : la valeur fluctue si il y a une bulle.

Dans ce cas-là, dévisser la tête de sonde, compléter avec de l'électrolyte, puis revisser lentement.

2. Polarisation de la sonde

La polarisation de la sonde O2 permet d'obtenir une valeur du taux d'O2 qui soit stabilisée

Pour polariser votre sonde O2, il suffit de connecter l'ensemble de votre matériel (sonde O2 + oxymètre + interface ExAO) et de laisser le système se stabiliser quelques minutes dans l'air (la valeur du taux d'O2 observée doit alors être constante).

Remarque :

Lors de 2 séances de TP successives, il est inutile de polariser de nouveau la sonde.

3. Etalonnage de la sonde O2

- **Pourquoi étalonner une sonde O2 ?**

L'étalonnage de la sonde permet d'obtenir une valeur absolue du taux d'O2

Il n'est par conséquent pas nécessaire d'étalonner une sonde O2 de façon rigoureuse (utilisation de la solution zéro) lorsqu'on cherche à mettre en évidence des variations du taux d'O2, ce qui est le cas pour les TP suivants :

- **La photosynthèse**
- **La réaction de HILL**
- **Etude de cinétique enzymatique par oxymétrie**
- **Etude du métabolisme humain**
- **Physiologie de l'effort**

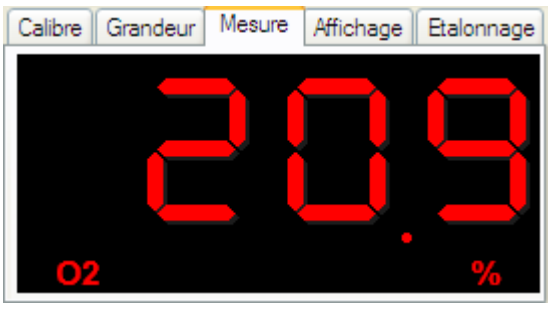
L'utilisation de l'étalonnage avec la solution zéro n'est préconisé que quelque fois par an, une fois au mois de septembre au redémarrage et au moins une fois au printemps.

Remarque :

Pour l'étude de la respiration des levures, il peut s'avérer judicieux d'étalonner la sonde O2 avec la solution zéro pour éviter d'obtenir une valeur légèrement négative du taux d'02 une fois tout l'oxygène consommé par les levures

- **Comment étalonner la sonde O2 ?**

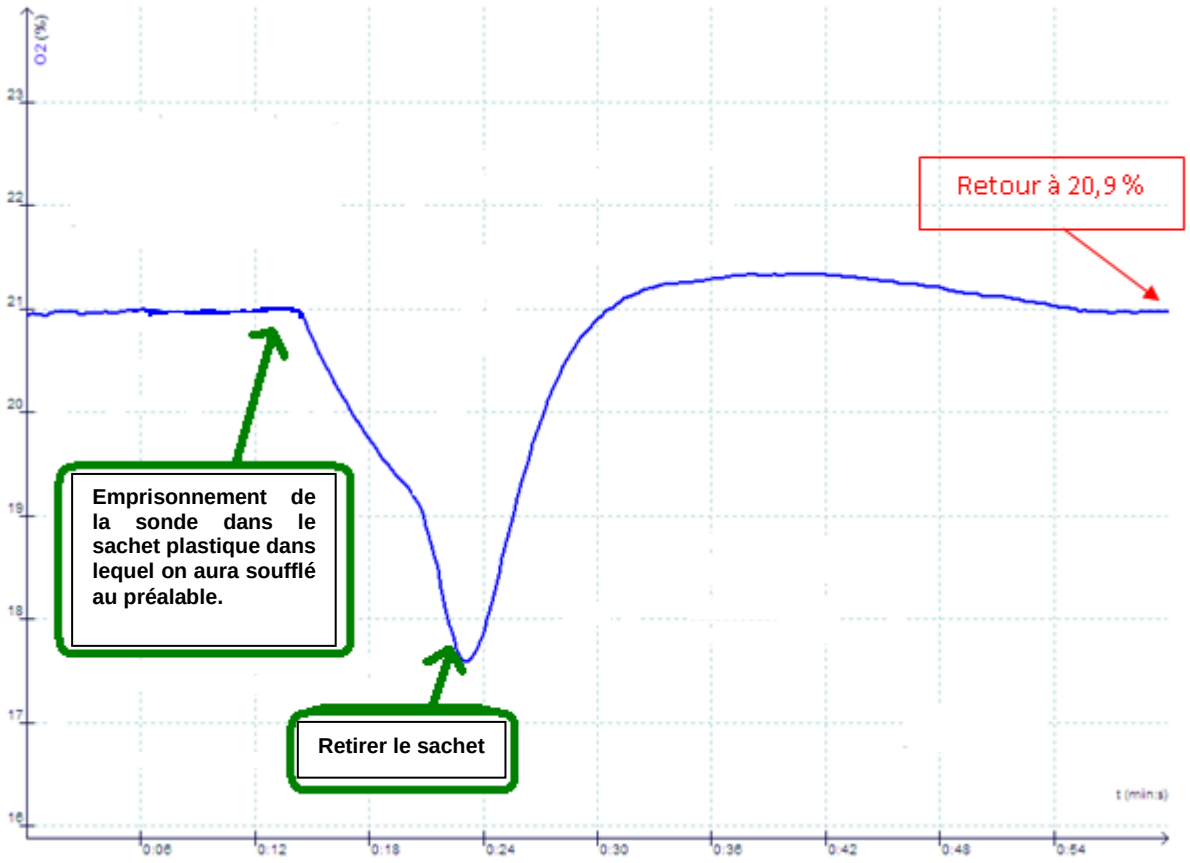
- Positionner la sonde O2 dans l'air
- Régler le bouton zéro (repéré par le symbole ◣◢) de l'oxymètre en milieu de course
- Ajuster le bouton pente (repéré par le symbole ◣) pour obtenir 20,9%



4. Test de la sonde

Paramétrer une acquisition sur 1 ou 2 minute. Poser la sonde sur le bord de la paillasse ou sur une potence pour éviter toutes interférences liée aux mouvements du câble. Avoir un sac plastique non troué dans lequel on pourra souffler.

Vous devez obtenir une courbe qui présente ce type d'allure :



Si la courbe obtenue présente un aspect différent, procéder de la façon suivante :

- Nettoyer l'électrode d'argent à l'ammoniaque 0,1 M à l'aide d'un chiffon doux, puis rincer à l'eau distillée.

- Remettre de l'électrolyte « neuf » dans la tête de sonde puis revisser lentement

- Changer la tête de sonde si la nouvelle courbe obtenue n'est toujours pas correcte

5. Entretien et conservation

> **Vous avez besoin de votre sonde O2 pour une série de TP.**

Vous pouvez conserver les sondes 02 avec l'électrolyte à l'intérieur de la tête de sonde, en position verticale (dans un bécher par exemple, ou tube à essai) avec de l'eau distillée.

IMPORTANT : veillez toutefois à changer l'électrolyte toutes les semaines si votre série de TP s'étale dans le temps. Cela vous permettra de vérifier l'état d'oxydation de la partie en argent de la sonde ainsi que l'état de la membrane de la tête de sonde.

> **Votre série de TP ou vous avez besoin de la sonde O2 est terminée.**

- Dévisser la tête de sonde

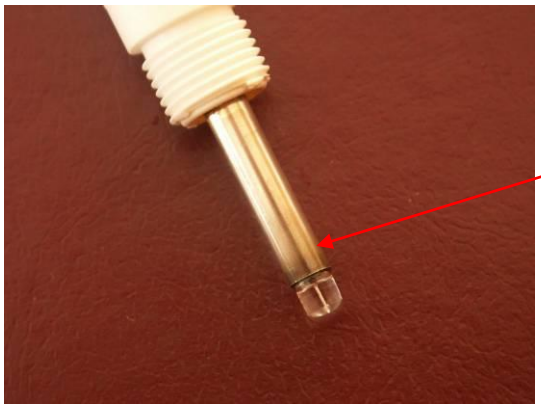
- Vider l'électrolyte et stocker les têtes de sonde dans un pot avec de l'eau distillée.

(cela vous permettra de conserver la tête de sonde dans les meilleurs conditions de conservation en conservant la membrane en milieu humide)

- Conserver les sondes de préférence verticalement à sec en protégeant le corps de la sonde très fragile avec un morceau de tuyau coupé ou le capuchon fournit.

> **Une fois par an**

L'électrode de la sonde étant en argent, des tâches noires d'oxydation peuvent apparaître. Pour y remédier, nettoyer en frottant légèrement l'électrode d'argent à l'ammoniaque 0,1 M à l'aide d'un chiffon doux, puis rincer à l'eau distillée



Nettoyage à l'ammoniaque 0,1 M

Electrode après nettoyage

ATTENTION :

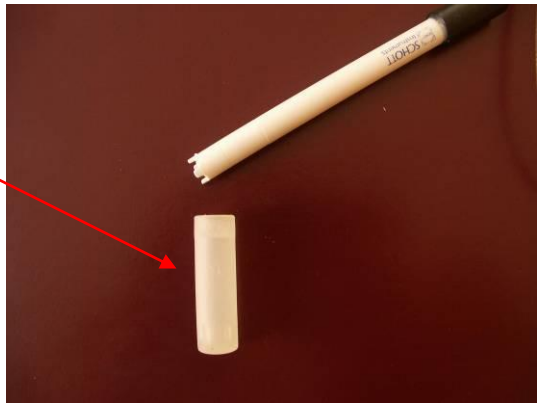
- **Ne pas plonger directement l'électrode dans l'ammoniaque**
- **Eviter le contact avec l'extrémité en verre de l'électrode**

6. TRUCS ET ASTUCES

- L'électrolyte pour sonde O2 est une solution de phosphate de sodium (Na3PO4) à 50 g/L. Hors de la sonde, on peut le conserver plusieurs années dans les conditions normales de température et d'humidité. Avant son utilisation, vérifier néanmoins qu'il soit bien totalement **translucide** et qu'il ne présente pas avec de reflets jaunâtres (électrolyte « périmé)

- La sonde O2 est livrée avec des capuchons très utiles durant le transport en protection mécanique. **Il est fortement déconseillé de les utiliser quand la sonde est en service avec la tête de sonde.** (Conserver les sondes directement dans un bécher avec un fond d'eau distillée) car les surpressions et dépressions créées à chaque fois qu'on insère ou qu'on retire la sonde fragilisent la membrane de la tête de sonde

NE PAS UTILISER POUR STOCKER QUANT IL Y A PRESENCE DE LA TÊTE DE SONDES



Ce Capuchon est à utiliser lors des périodes ou la sonde ne sert pas en protection mécanique du corps de la sonde (partie en argent et verre).

- La tête de sonde doit être changée une fois par an en moyenne dans des conditions normales d'utilisation.

- Il est important de ne pas laisser connecter en permanence la sonde et l'adaptateur à l'interface ExAO si celle-ci est alimentée par une alimentation externe (observation d'un dépôt noir dans la tête de sonde et diminution de la durée de vie de la sonde)

ANNEXE 2 : SONDE CO2 – Mode d'emploi

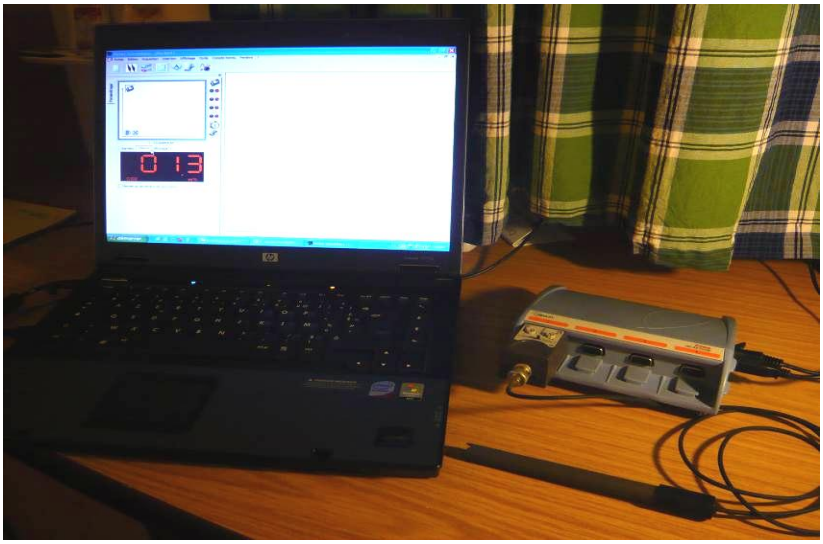
Pour démarrer rapidement

1. **Mettre en place l'ensemble du matériel : sonde C02 + Adaptateur CO2mètre + Interface ExAO et lancer votre logiciel d'acquisition**

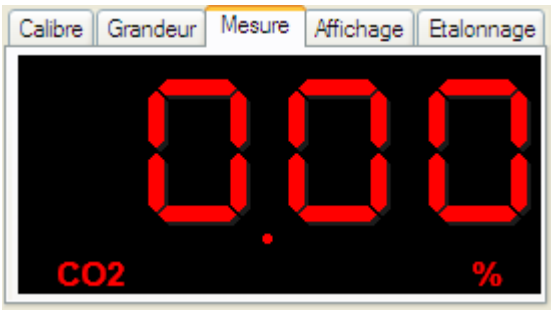
2. **Remplir la tête de sonde avec « l'électrolyte pour sonde CO2 » de telle sorte que l'électrolyte déborde lorsque la tête de sonde est vissée sur le corps de la sonde. Cette manipulation aura 2 effets :**

   - ***Etre sure qu'il n'y a pas de bulle d'aire***
   - ***Vérifier l'étanchéité de la membrane et l'absence de fuite.***

3. **Visser la tête de sonde, rincer à l'eau distillée et laisser le système se stabiliser pendant quelques minutes dans l'air (la valeur affichée doit alors être constante)**

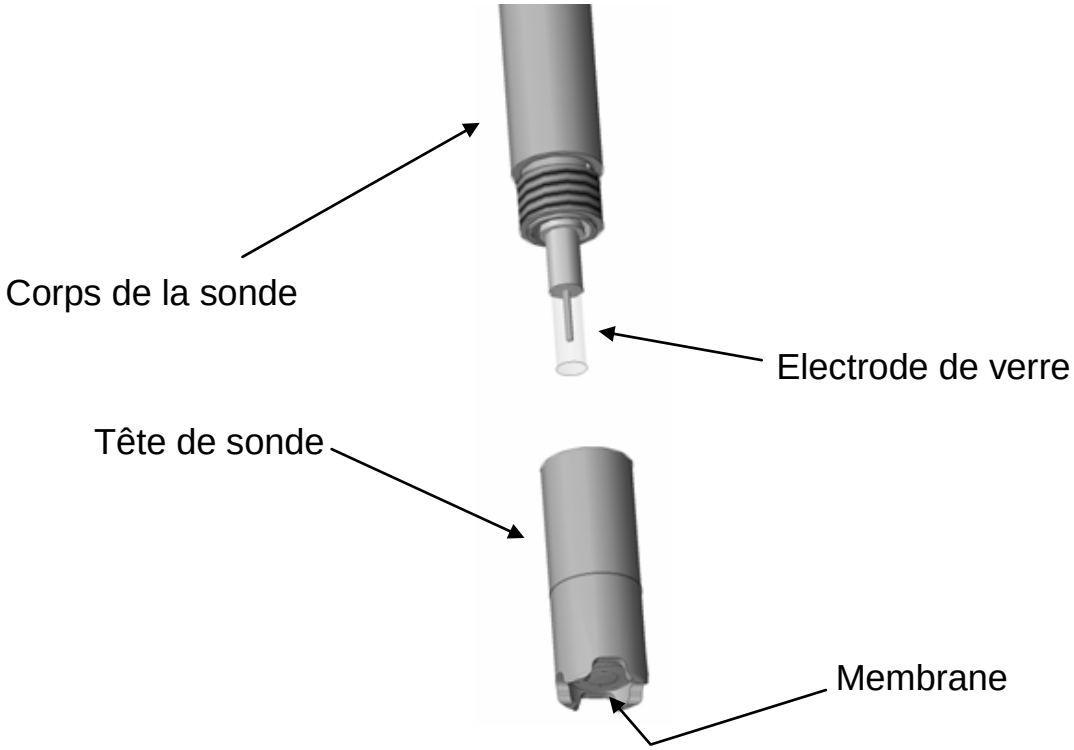


4. Positionner le bouton pente (situé à droite) du CO2mètre au maximum et régler le bouton zéro (situé à gauche) pour obtenir 0,00 % dans l'air



VOTRE SONDE CO2 EST PRETE A L'EMPLOI

1. Mise en service de la sonde C02



Remplir la tête de sonde avec « l'électrolyte pour sonde CO2 » de telle sorte que l'électrolyte déborde lorsque la tête de sonde est vissée sur le corps de la sonde, ce qui évitera la présence de bulles d'air

NE PAS CONFONDRE LES FLACONS D'ELECTROLYTE ET D'ACIDE CITRIQUE

Remarque :

La présence d'une grosse bulle peut être détectée en observant la valeur renvoyée par la sonde positionnée successivement tête en haut puis tête en bas : la valeur fluctue si il y a une bulle.

Dans ce cas-là, dévisser la tête de sonde, compléter avec de l'électrolyte, puis revisser lentement.

2. Polarisation de la sonde

La polarisation de la sonde CO2 permet d'obtenir une valeur du taux de CO2 qui soit stabilisée

Pour polariser votre sonde CO2, il suffit de connecter l'ensemble de votre matériel (sonde CO2 + CO2mètre + interface ExAO) et de laisser le système se stabiliser quelques minutes dans l'air (la valeur du taux de CO2 observée doit alors être constante).

Remarque :

Lors de 2 séances de TP successives, il est inutile de polariser de nouveau la sonde.

3. Etalonnage de la sonde CO2

- **Pourquoi étalonner une sonde CO2 ?**

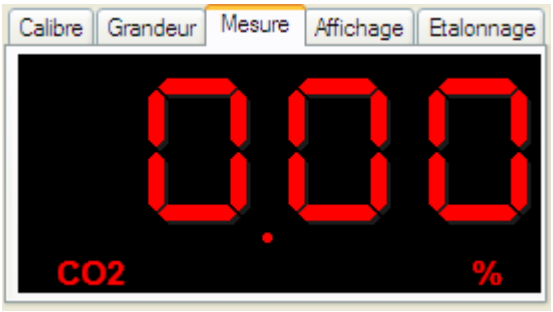
L'étalonnage de la sonde permet d'obtenir une valeur absolue du taux de CO2

Il n'est par conséquent pas nécessaire d'étalonner une sonde CO2 de façon rigoureuse (utilisation du mélange acide citrique et hydrogénocarbonate de sodium) lorsqu'on cherche à mettre en évidence des variations du taux de CO2, ce qui est le cas pour les TP suivants :

- **La photosynthèse**
- **La réaction de HILL**
- **Etude de cinétique enzymatique par oxymétrie**
- **Etude du métabolisme humain**
- **Physiologie de l'effort**
- **Etude de la respiration des levures**

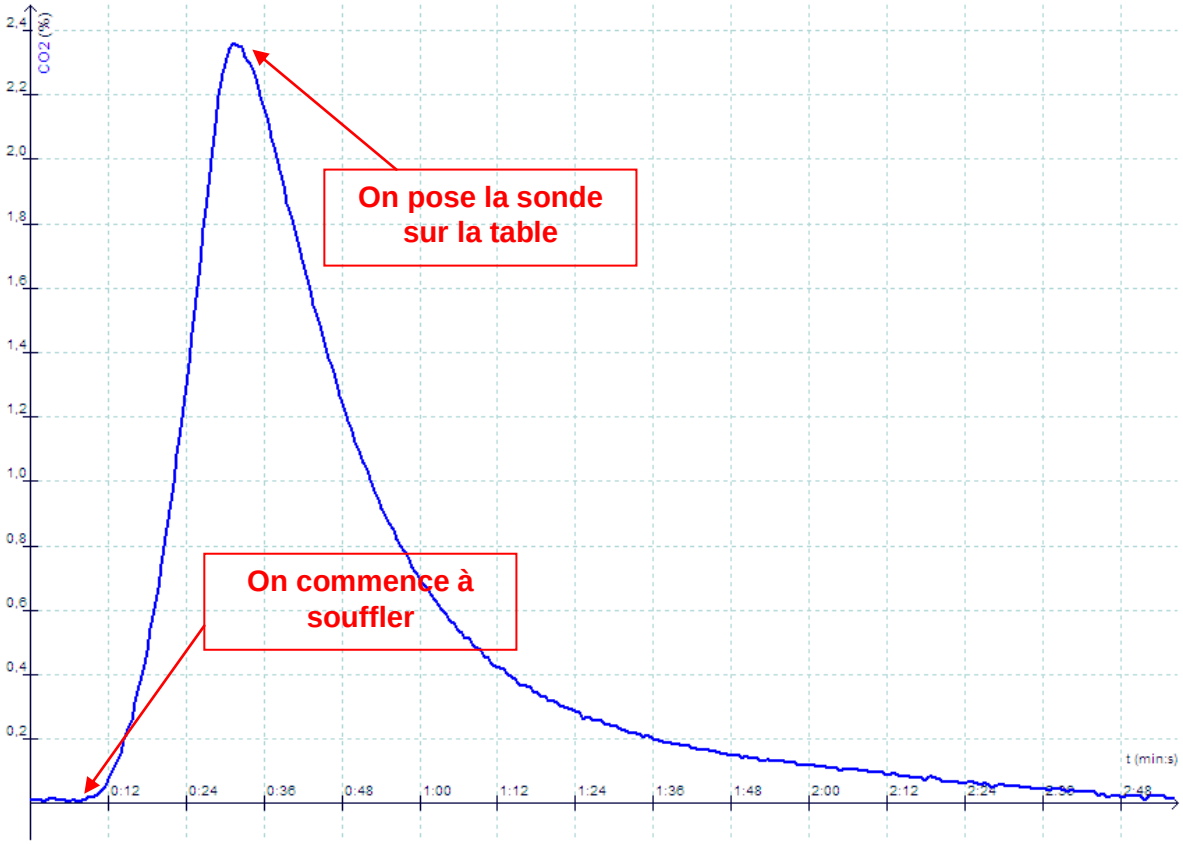
- **Comment étalonner la sonde CO2 ?**

- Positionner la sonde CO2 dans l'air
- Régler le bouton pente (repéré par le symbole ◣) du CO2mètre au maximum
- Ajuster le bouton zéro (repéré par le symbole ◣◢) pour obtenir 0,00 %



4. Test de la sonde

Paramétrer une acquisition sur 3 minutes. Tenir la sonde entre les mains et souffler dessus. Vous devez obtenir une courbe qui présente ce type d'allure :



Si la courbe obtenue présente un aspect différent, procéder de la façon suivante :

- Nettoyer l'électrode de verre à l'éthanol 95° à l'aide d'un chiffon doux, et laisser s'évaporer
- Remettre de l'électrolyte « neuf » dans la tête de sonde puis revisser lentement
- Changer la tête de sonde si la nouvelle courbe obtenue n'est toujours pas correcte

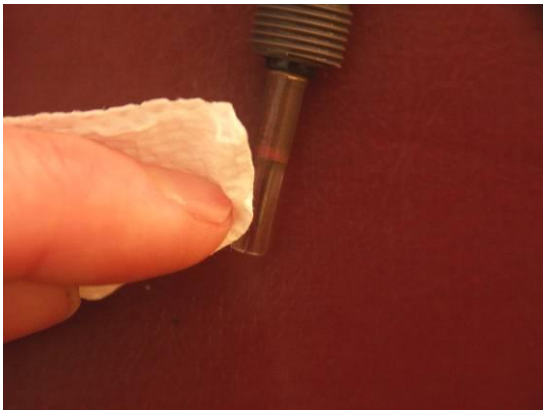
5. Entretien et conservation

> **Durant toute l'année**

Il faut TOUJOURS conserver la sonde CO2 avec l'électrolyte à l'intérieur de la tête de sonde. Il est recommandé de la positionner verticalement dans un bécher à sec.

> **Une fois par an**

- Dévisser la tête de sonde
- Vider l'électrolyte de la tête de sonde
- Rincer la tête de sonde à l'eau distillée
- Nettoyer en frottant légèrement l'électrode en verre à l'éthanol 95° à l'aide d'un chiffon doux préalablement imbibé et laisser s'évaporer
- Remplir la tête de sonde avec de l'électrolyte
- Revisser la tête de sonde sur le corps de la sonde
- Conserver les sondes verticalement dans un bécher



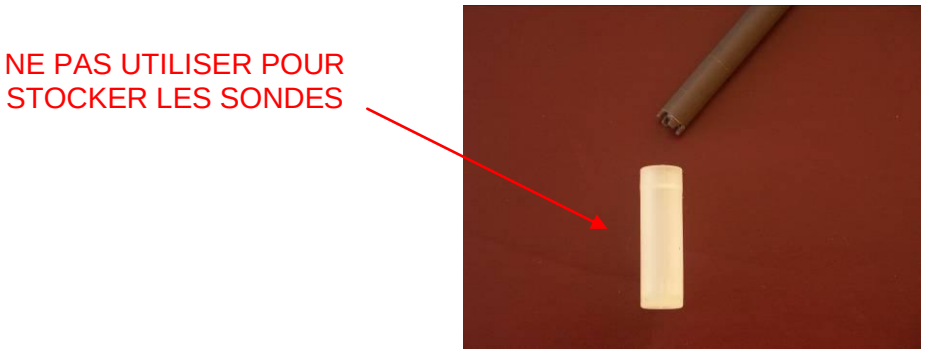
Au niveau de la tête de sonde :

Il se peut que vous observiez par transparence un halot graisseux à l'intérieur de la tête de sonde.
Pour décoller ce halot, utilisez un coton tige imbibé d'éthanol à 95° en tournant le coton tige mais en faisant attention de ne pas transpercer la membrane.
Ce halot va se décoller facilement, mais ne restera peut être pas sur le coton tige.
Dans ce cas, utilisez une pissette d'eau distillée pour évacuer ce halot.

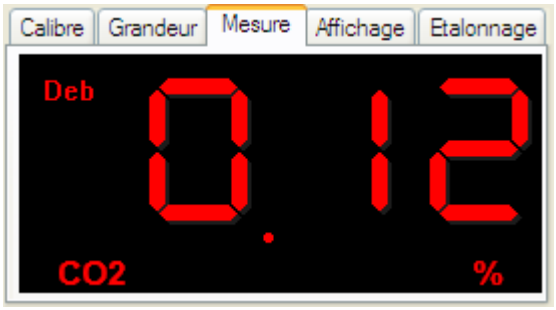
6. TRUCS ET ASTUCES

- L'électrolyte pour sonde CO2 est une solution d'éthylène-glycol. Hors de la sonde, on peut le conserver plusieurs années dans les conditions normales de température et d'humidité. Avant son utilisation, vérifier néanmoins qu'il soit bien totalement **translucide** et qu'il ne présente pas avec de reflets jaunâtres (électrolyte « périmé)

- La sonde CO2 est livrée avec des capuchons très utiles durant le transport pour protéger les membranes des têtes de sonde. **Il est fortement déconseillé de les utiliser par la suite** (conserver les sondes directement dans un bécher avec un fond d'eau distillée) car les surpressions et dépressions créées à chaque fois qu'on insère ou qu'on retire la sonde fragilisent la membrane de la tête de sonde



- Si la valeur affichée est 0,12 avec le symbole « DEB » (pour « débordement ») qui clignote, procéder de la façon suivante :



- **Mettre les boutons pente et zéro du CO2mètre au minimum**
- **Dévisser la tête de sonde et rincer l'électrode de verre à l'eau distillée jusqu'à ne plus observer le symbole « DEB »**
- **Nettoyer l'électrode de verre à l'éthanol 95° à l'aide d'un chiffon doux, et laisser s'évaporer**
- **Nettoyer la tête de sonde avec un coton tige imbibé d'éthanol à 95°.**
- **Remettre de l'électrolyte « neuf » dans la tête de sonde puis revisser très lentement**
- **Changer la tête de sonde si « DEB » apparaît toujours**

- La tête de sonde doit être changée une fois par an en moyenne dans des conditions normales d'utilisation